

مقدمة قصيرة جدًّا

مارك لورتش

الكيمياء الحيوية

ترجمة إبراهيم سند أحمد

الكيمياء الحيوية

مقدمة قصيرة جدًّا

تأليف
مارك لورتش

ترجمة
إبراهيم سند أحمد

مراجعة
مصطفى محمد فؤاد



الكيمياء الحيوية

مارك لورتش

Biochemistry

Mark Lorch

الناشر مؤسسة هنداوي
المشهرة برقم ١٠٥٨٥٩٧٠ بتاريخ ٢٦ / ١ / ٢٠١٧

يورك هاوس، شييت ستريت، وندسور، SL4 1DD، المملكة المتحدة
تليفون: ٨٣٢٥٢٢ ١٧٥٣ (٠) ٤٤ +
البريد الإلكتروني: hindawi@hindawi.org
الموقع الإلكتروني: https://www.hindawi.org

إنَّ مؤسسة هنداوي غير مسئولة عن آراء المؤلف وأفكاره، وإنما يعبِّر الكتاب عن آراء مؤلفه.

تصميم الغلاف: ولاء الشاهد

الترقيم الدولي: ٠ ٣١٩٩ ٥٢٧٣ ١ ٩٧٨

صدر الكتاب الأصلي باللغة الإنجليزية عام ٢٠٢١.
صدرت هذه الترجمة عن مؤسسة هنداوي عام ٢٠٢٣.

المحتويات

المقدمة

بدايةً من أبسط أنواع البكتيريا وحتى الإنسان، تتكوَّن كل الكائنات الحية من نوع أو آخر من الخلايا. والمدهش أن كل هذه الكائنات جوهريًّا لها الكيمياء نفسها، بغض النظر عن مكانها في شجرة التطور. لا بد أن هذه الكيمياء توفِّر آلياتٍ تتيح للخلايا أن تتفاعل مع العالم الخارجي، ووسيلةً لإمداد الخلايا بالطاقة، وبنياتٍ لتنفيذ مختلف أنواع العمليات، وإطارًا يعمل بداخله كل شيء، وبالطبع نوعًا من التحكم. الخلايا تشبه المجتمعات الإحيائية في كثير من النواحي، ولكن تتحكَّم بها وتسيطر عليها شبكةٌ من التفاعلات الكيميائية المتداخلة. وتدور الكيمياء الحيوية حول دراسة هذه التفاعلات، وكذلك الجزيئات التي تُنتَج وتتعدَّل وتتدمر نتيجة لهذه التفاعلات، والجزيئات الضخمة الهائلة (مثل الدي إن إيه والهياكل الخلوية والبروتينات والكربوهيدرات) التي تشكِّل البنيات الكيميائية التي تحدُث فيها هذه التفاعلات الكيميائية الحيوية.

أو بعبارة أوجز صاغها عالِم الفيزياء العظيم إرفين شرودنجر: «في علم الأحياء … مجموعة واحدة من الذرات … تنتج أحداثًا منظمة، متوافقة بعضها مع بعض ومع البيئة توافقًا رائعًا طبقًا لأدق القوانين.»

إذن، الكيمياء الحيوية هي المجال الذي يسعى لفهم تلك القوانين الدقيقة التي تحكم هذه الأحداث المنظمة ذات التوافق الرائع؛ إنها تدرُس الجزيئات الحيوية وتفاعلاتها، ومن ثَم فإنها تسعى إلى كشف الستار عن الأساس الجزيئي للحياة.

بالطبع الحياة بكل مجدها لا تتألف من مجرد خلايا مفردة فحسب. بل إن الخلايا تتجمع معًا لتكوِّن كائناتٍ متعددة الخلايا، ومن ثَم لا بد من وسيلة كي تتواصل هذه الخلايا المفردة وتعمل معًا. والكائنات الحية بدورها تتفاعل معًا لتكوين الشبكات المعقَّدة التي تشكِّل أنظمتنا البيئية. وكل هذه التفاعلات تُنظَّم وتُيسَّر عبْر وسائل كيميائية حيوية.

لنضرب المثلَ على ذلك بجزيئات الرودوبسين التي تستجيب لفوتونات الضوء، ومن ثَم، فهي تُعَد بمنزلة المرحلة الأولى التي يحدِّد بها الكائن المفترس وجبتَه التالية. مثال آخر وهو البروتينات الشمية التي تربط بضعة جزيئات صغيرة جدًّا بعضها ببعض، ومن ثَم تؤدي إلى سلسلة من التفاعلات الكيميائية الحيوية تجعل الفريسة تتنبَّه إلى وجود الكائن المفترس. مثال ثالث وهو الأجسام المضادة التي تُعدُّ خطوطَ الدفاع الأول حيث إنها تتعرَّف على الجزيئات الغريبة للطفيليات الغازية وتطلق النفير لجيش الاستجابة المناعية. كل هذه العمليات تقع ضمن مجال الكيمياء الحيوية.

لم يمرَّ وقت طويل على فهْم كيمياء الحياة حتى ظهرت رغبةٌ في تعديلها. فالأدوية والعلاجات كلها تهدف إلى تعديل العمليات الكيميائية الحيوية سواء كانت النتيجة إيجابية أو سلبية؛ فالبنسلين، على سبيل المثال، المشتق من فطرٍ معيَّن، يمنع البكتيريا من بناء جدران خلاياها؛ والأسبرين الذي ترجع جذوره الأولى إلى لحاء شجر الصفصاف يعمل على تثبيط الإنزيمات الداخلة في الاستجابات الالتهابية؛ وبضعة نانوجرامات من سُم البوتولينيوم (البوتوكس) كفيلة بأن تقتل كائنًا حيًّا بمنع إطلاق الناقلات العصبية من نهايات الأعصاب ما يؤدي إلى الشلل والوفاة، وعلى الجانب الآخر يمكن حقنُ كميات صغيرة للغاية منه بحيث يؤدي إلى اختفاء التجاعيد من الجبهة. كل هذه العمليات تندرج ضمن مجال الكيمياء الحيوية.

كان من السهل تناولُ هذه الموضوعات ببعض التفصيل في هذا الكتاب، وقد يشعر بعض القراء أني قد قصرت بتجاهلها هي وموضوعات أخرى جوهرية، مثل الفيتامينات والهرمونات والكروموسومات والعديد من تقنيات الكيمياء الحيوية. ولكن هذه في النهاية مقدمة قصيرة جدًّا، ولذا اضطررت إلى الإيجاز نوعًا ما. ونتيجة لذلك، ركَّزت في جزء كبير من الكتاب على جانب من الكيمياء التي تحدُث داخل الخلايا. والسبب هو أنها تكمُن فيها العمليات الكيميائية الأساسية التي تتشاركها كل الكائنات الحية.

وأخيرًا، الحدود الدقيقة للكيمياء الحيوية غير محدَّدة جيدًا، حيث تتداخل مع علم الوراثة وعلم الأحياء الجزيئي وعلم الأحياء الخلوي والفيزياء الحيوية والتكنولوجيا الحيوية. ولما كان الأمر كذلك، اختتمت الكتاب بفصلين يتناولان بعضَ الاكتشافات الجوهرية في الكيمياء الحيوية التي تؤثِّر في هذه المجالات وفي المجتمع بوجه عام.

الفصل الأول

جذور الكيمياء الحيوية

يرتبط تاريخ الكيمياء الحيوية من عدةِ نواحٍ بفهمِ ما يُعَد أقدَم استخدامات التكنولوجيا الحيوية؛ أي التخمُّر وإنتاج المشروبات الكحولية والجبن. ربما يتزامن تصنيع الجبن مع تطوُّر الزراعة وتدجين الماعز والخِراف منذ ما يقرُب من ١٠ آلاف سنة. لقد كان اللبن الطازج المتروك في أجواءٍ دافئة بيئةً مثالية لتكاثُر الميكروبات مثل بكتيريا المكورة اللبنية. هذه البكتيريا تحوِّل اللاكتوز في اللبن إلى حمض اللاكتيك، ما يؤدي بدوره إلى تخثُّر البروتينات في اللبن وتكوين الروائب. كان الانخفاض الناتج في محتوى اللاكتوز في الروائب (ومصل اللبن الباقي) بمنزلة نعمة كبيرة للبالغين من البشَر في العصر الحجري الحديث؛ حيث إنهم كانوا يواجهون بلا شك مشكلةً في هضم اللاكتوز (إذ لم يكن قد تطوَّرت لديهم وسيلةٌ لتكسير هذا النوع من السكر). وبالطبع يمكن عصر الروائب وتجفيفها لتكوين جبنٍ سهل التخزين. وفي نحو هذا الوقت، استخدمت ثقافاتٌ أخرى الخميرةَ من أجل تخمُّر الجلوكوز وتحويله إلى الإيثانول. في هذه العملية، تتغلَّب الخميرة على البكتيريا الضارة، ما يجعل المشروب الناتج أكثرَ أمانًا في شربه من شرب المياه غير المعالَجة. ومن هنا، ظهرت الجِعَة.

التخمُّر والإنزيمات

نتقدم سريعًا إلى القرن التاسع عشر حيث وقع جدالٌ بين عملاقين من الوسط العلمي بشأن العمليات الكيميائية التي يقوم عليها التخمُّر. لقد حدث صدام بين عالِم الكيمياء والأحياء الدقيقة لوي باستور الذي يشتهر بعمله على اللقاحات والبسترة، والعالِم جاستس فرايهر

فون ليبيج (الذي يشتهر باختراعه مكثفًا سُمي على اسمه، والأهم بكونه مؤسِّس صناعة التسميد وأبا الكيمياء العضوية).

دعم ليبيج النظريةَ الكيميائية الخاصة بالتخمُّر. فقد اعتمد على أفكارٍ اقترحها أنطوان لافوازييه بأن الخميرة رافقت ظهورَ التخمُّر وربما كانت سببًا في ظهوره، ولكن بمجرد أن دارت العجلة الكيميائية الحيوية، لم يَعُد للكائنات الحية دورٌ في هذه العملية. شرح ليبيج هذا بوضع نظرية تنصُّ على أن التخمُّر نتج عن انتقال حالات اضطراب الجزيئات بين مكوِّنات الخميرة، وهي عملية كان يعتقد أنها شبيهة بتحلل المادة الحيوانية والنباتية. إذن، ومن هذا المنظور، فإن التخمُّر عبارة عن عملية كيميائية خالصة لا تتطلب أيَّ تدخُّل من الكائنات الحية.

في المقابل، اتخذ باستور نهجًا تجريبيًّا. فبإثبات أن التخمُّر لم يحدُث في مرقٍ قُتلت فيه الكائنات الدقيقة عن طريق الغليان، استنتج باستور أن التخمُّر نتج عن عمل الكائنات الدقيقة القابلة للنمو. قال في هذا الشأن: «التخمُّر الكحولي فعلٌ مرتبط بحياة خلايا الخميرة وتنظيمها، وليس مرتبطًا بموت الخلايا أو تحلُّلها.»

لا يخفى أن هذه العبارة كانت تقدح في نظريات ليبيج، وساعدت في تأجيج الجدال بين العالِمَين، الذي قد وقع من خلال أوراقهما البحثية وخطاباتهما واستمرَّ من أواخر خمسينيات القرن التاسع عشر وحتى ستينياته. في بعض الأحيان، كانت المراسلات بينهما لاذعة بشدة؛ إذ اقترح ليبيج أن تجارب باستور لا يمكن تَكرارها. لكن، في الواقع، لم تكن نظريات أيٍّ منهما عن التخمُّر صحيحة. وفي النهاية، حُلت المسألة بعد ما يقرُب من ثلاثين سنة على يد الأخوين الألمانيَّين هانس بوخنر (عالِم البكتيريا) وإدوارد بوخنر (عالِم الكيمياء).

بينما كان الجدال بشأن التخمُّر محتدمًا، بدأ بزوغ مجال علم الإنزيمات. لقد كان معروفًا لبعض الوقت أن الكائنات الحية تفرز جزيئاتٍ تسمح بتنفيذ التفاعلات الكيميائية بسرعةٍ أكبر وفي ظل ظروفٍ أخف عما كان متوقعًا بخلاف ذلك. أول مَن أثبت هذا الأمر كان العالِم أنسيلم باين (عام ١٨٣٣)؛ حيث عزل مادة كيميائية من مستخلص الشعير تحوِّل النشا إلى سكر (وأسماها الدياستيز، ويشار إليها الآن باسم الأميليز). وبعد مرور مدة قصيرة، أي، في عام ١٨٣٤، استخلص تيودر شوان البيسين (وهي كلمة مشتقة من كلمة pepsis وتعني «الهضم») من العصارات المَعِدية. يحلِّل البيسين بروتينات البيض أسرعَ بكثير من حمض المعدة بمفرده. ثم تبِعهما آخرون وسرعان ما توصَّلوا إلى المزيد من

أمثلة المستخلصات، التي حلَّلت كلها عدة مواد كيميائية ذات مصدر حيوي. ولا يخفى أن هذه المواد احتاجت إلى اسم، وفي النهاية طرح فيلهلم كون عام ١٨٧٦ اسمًا جديدًا بصياغة مصطلح الإنزيم (وهو مشتق من كلمة enzumous، وتعني «في الخميرة/مُخمر»). يجب التنويه إلى أن فيلهلم كون حينذاك كان يتمتَّع بالوضوح التام في أن تعريفه للإنزيمات لا يشمل سوى المواد التي توجد خارج الخلايا.

في عام ١٨٩٣، كان هانس بوخنر عاكفًا بجِدٍّ على طريقةٍ لاستخلاص المواد من البكتيريا لأغراض إنتاج اللقاحات. كان من الصعب إنماءُ البكتيريا بأي كمية، ومن ثَم اختبر أساليبه على الخميرة (وبفضل عيشه في ميونيخ حيث وفرةُ مصانع الجِعَة، فقد كانت هناك وفرةٌ في مخزون الخميرة). وعليه، نجح هانس في فتح الخلايا وإخراج محتواها السائل — البروتوبلازم — عن طريق سحق الخميرة في مكبس هيدروليكي. بعد هذه العملية، كانت الخميرة ميتة تمامًا؛ ومن ثَم، وبناءً على نظرية باستور، فلا يُفترض أن يوفِّر المستخلص ميزةَ التخمُّر. ولذا فوجئ الأخوان بوخنر عندما رأيا فقاعات ثاني أكسيد الكربون — عند مزج بروتوبلازم وجلوكوز الخميرة — على سطح وعاء التفاعل. أوضحت هذه العلامة الدالة بما لا يدَع مجالًا للغموض أن التخمُّر يمكن أن يحدُث من دون عامل حي قابل للنمو.

السر في اكتشاف الأخوين بوخنر الذي وقع بالصدفة كان يكمُن في الطريقة التي استخلص بها هانس محتويات الخلايا. سبق أن حاول الكثيرون غيره استخلاصَ البروتوبلازم النشط، ولكن كان جميعهم يستخدمون الحرارة أو المذيبات، وكلتا الطريقتين لا تقتل الخلايا فحسب، بل تدمِّر البروتينات الحساسة بداخلها. وقد كانت هذه البروتينات — وعلى وجه التحديد الإنزيمات «داخل» الخلايا — هي المسئولة عن التخمُّر. ولأول مرة أثبت الأخوان بوخنر أن المواد الكيميائية المستخلَصة من الخلايا الحيوية تنفِّذ الأفعال نفسها، سواء داخل الخلايا أو خارجها. وباستخراج الزايميز (كما أسماه إدوارد بوخنر)، فقد أثبتا أن التخمُّر يمكن أن يحدُث من دون وجود الكائن الحي، ولكنه يحتاج إلى مادة مشتقة من الخلايا. في الواقع، هكذا يكونان قد توصَّلا إلى حلٍّ وسط بين تصوُّرَي ليبيج وباستور. إضافة إلى ذلك، فقد وسَّعا تعريفَ فيلهلم كون للإنزيمات بحيث يضم المادةَ الموجودة داخل البروتوبلازم. كان هذا الاكتشاف ثوريًّا بحقٍّ كما أنه كان مسمارًا في نعش المذهب الحيوي السائد حينها، الذي كان يرى بأن الكائنات الحية تختلف اختلافًا جوهريًّا (نتيجةً لعامل غير مادي) عن الجمادات.

البروتينات

بتحرير الكيمياء الحيوية (وهو مصطلح كان أوَّل مَن استخدمه بالمعنى المستخدَم اليوم هو فيليكس هوب سيلر عام ١٨٧٧) من قيود المذهب الحيوي، أوضح الأخوان بوخنر أنه يمكن دراسةُ ما يحدُث داخل الخلية باستخدام الأساليب نفسها المطبَّقة في باقي مجالات الكيمياء. وذلك مهَّد الطريق لظهور الكيمياء الحيوية الحديثة وفتح الطريق لفهمِ طبيعة الإنزيمات؛ إذ لم يكن واضحًا حينئذٍ أنها في الحقيقة بروتينات.

في واقع الأمر، لما بزغت النقاشاتُ حول التخمُّر وعلم الإنزيمات، كانت طبيعة البروتينات أيضًا قيد الدراسة. وبحلول ثلاثينيات القرن التاسع عشر، انشغل علماء الكيمياء بتطبيق أسلوب من الأساليب التحليلية القليلة المتوافرة لديهم — وهو التحليل العنصري — على المواد الحيوية. يخبر التحليل العنصري الباحثين الدءوبين بمقدار الكربون والنيتروجين والأكسجين والهيدروجين والفوسفور والكبريت وغيرها من العناصر في المادة التي اختاروا دراستها. وبما أنه لم يكن هناك الكثير غير ذلك مما يمكن فِعله بهذا الأسلوب، فقد استخدمه العلماء لتحليل كل نوع تقريبًا من المواد التي تتكون بنحو طبيعي ويمكنهم الوصول إليها. أنشأ العلماء جداولَ ضخمة من البيانات توضح بالتفصيل التركيب العنصري للمواد النباتية، بما في ذلك — على سبيل المثال لا الحصر — الشاي الأخضر والقهوة والشاي الأسود والسُّكر (بدا أنهم كانوا حريصين جدًّا على تحليل المشروبات) واللحاء والزيت. وقد أعطتهم النتائج النسبة المئوية لجميع العناصر في أي عينة. على سبيل المثال، تبيَّن أن السكَّر العادي (السكروز) يحتوي على ٢٧ بالمائة كربون، و٤٩ بالمائة هيدروجين، و٢٤ بالمائة أكسجين. واليوم، نكتب هذا بالصيغة التجريبية $C_{12}H_{22}O_{11}$، وهذا يعني أن عناصر الكربون والهيدروجين والأكسجين توجد بالنِّسب ١٢:٢٢:١١. تقريبًا يبدو أن كل شيء اختبره علماء الكيمياء الحيوية الأوائل هؤلاء أعطى نِسبًا للعناصر بأعدادٍ بوحدات الآحاد أو العشرات أو العشرينات.

ثم في عام ١٨٣٨، حوَّل، طبيب شاب يُدعى جيريت مولدر كان قد أصبح محاضرًا جامعيًّا، اهتمامَه من عينات النباتات إلى عينات الحيوانات. ففي مختبره المُنشأ في روتردام، كلَّف مجموعة الطلاب لديه بمهمة تحليل بياض البيض والنسيج العضلي. لم تكن النتائج التي توصَّل إليها متوقعة تمامًا؛ فقد كانت نِسب الكربون والهيدروجين والنيتروجين والأكسجين متطابقة تمامًا في المادتين. وكذلك احتوت المادتان على كميات ضئيلة من الفوسفور والكبريت وبنِسب متطابقة أيضًا. كانت هذه نتيجةً مدهشة؛ حيث إنها كانت

تشير إلى أن المستخلصين المأخوذين من مصدرين مختلفين تمامًا — العضلات وبياض البيض — يبدو أنهما متطابقان من حيث التركيب. وما لفت النظرَ أكثر أنه وُجد أن الصيغة التجريبية هي $C_{400}H_{620}N_{100}$. إلى هذا الحد، كانت جميع الصيغ المشتقة من المواد الأخرى التي خضعت للاختبار تشبه إلى حدٍّ ما صيغة السكر ($C_{12}H_{22}O_{11}$) أو الكحول ($C_2H_7O_1$)؛ أي إن كل عنصر من العناصر كان يوجد بنسبة صغيرة نسبيًّا. هذه الصيغة الجديدة كانت تعني أن الجزيئات التي كانوا يختبرونها في ألياف العضلات وبياض البيض كانت أكبرَ بكثير من أي جزيئات سبق أن صادفوها. إضافةً إلى ذلك، حينما تابع مولدر اختباراته على موادَّ نباتية وحيوانية أخرى، مثل مصل الدم (الدم المُزال منه كل الخلايا والصفائح الدموية) أو ألبومين القمح (أجزاء حبات القمح القابلة للذوبان في الماء)، تبيَّن أن لها أيضًا صيَغًا شبه متطابقة باستثناء فروق بسيطة في كميات الكبريت والفوسفور.

كتب مولدر المبتهِج للغاية إلى مشرفِه جونس ياكوب بيرسيليوس (وهو قامة كبيرة سويدية في الكيمياء، وضع رموز الصيغ الكيميائية المستخدَمة اليوم) كي يشرح له النتائج التي توصَّل إليها. توصَّل الاثنان إلى نتيجةٍ مُفادها أن معظم المادة الحيوانية مشتقة من النباتات. تتغذَّى الحيوانات على النباتات، ثم تعدِّل لَبنات البناء الأساسية أو السلائف الكيميائية هذه. فكَّر بيرسيليوس أن هذه اللبنات بحاجة إلى اسمٍ أفضل، وفي عام ١٨٣٨ توصَّل إلى اسم «بروتيوس» (proteios) (المشتق من اللغة اليونانية ويعني الأولي)، وفي النهاية أصبح «بروتين» (protein).

أحدثت النتائج التي توصَّل إليها مولدر ضجةً كبيرة في علم الكيمياء الحيوية الناشئ. ومن ثَم دخلت بعضُ الأسماء ذات الثِّقل إلى المجال، من أبرزها ليبيج الذي شرع في تأليف كتاب عن هذا الموضوع. في تلك الأثناء، حاول آخرون تَكرار تجارب مولدر. وسرعان ما تبيَّن أن تحليل مولدر للبروتينات الحديثة التسمية لم يكن صحيحًا تمامًا، وبما أنها كانت جزيئات كبيرة الحجم جدًّا بلا شك، فقد كان هناك تباينٌ في صيَغِها أكبر بكثير مما زعمه مولدر. بحلول ذلك الوقت، كان كتاب ليبيج الذي اعتمد على نتائج مولدر الأصلية قد نُشر، وقد غضب كثيرًا حينما علِم أن الفكرة المحورية — وهي أن البروتينات هي العامل الغذائي «الأولي» للحيوانات — التي دار حولها الكتاب تبيَّن أنها كانت خاطئة. وعلى الرغم من ذلك، فإن ما أسهم به ليبيج، وكذلك الخلاف مع مولدر الذي أعقب ذلك، قد أنعشا هذا المجال بأكمله وجذبا مجموعة جديدة بالكامل من العلماء الحريصين على معرفة ممَّ تتكوَّن جزيئات البروتين الضخمة المكتشفة حديثًا هذه.

وهكذا، بحلول القرن التاسع عشر، توصَّل علماء الكيمياء الحيوية (أو علماء الكيمياء الفسيولوجية كما كانوا معروفين حينها) إلى البروتينات والإنزيمات، ولكن لم يكن قد اتضح بعدُ هل الإنزيمات بروتيناتٌ أم لا. ظهر فريقان. قال الفريق الأول إن النشاط الإنزيمي يتزامن دومًا مع وجود البروتينات، ومن ثَم لا بد أن الإنزيمات بروتينات. وقال الفريق الآخر إن البروتينات ليست سوى ناقلات للإنزيمات، وأشار إلى حقيقةِ وجود مواد أخرى غير بروتينية يمكن أن تحفِّز التفاعلات مثل الإنزيمات تمامًا. يعود جوهر حجة «الناقل» إلى ملاحظةٍ بسيطة مُفادها أن النشاط الإنزيمي يمكن قياسه في الغياب الواضح للبروتين. لكن في الحقيقة، هذه الحجَّة يسهُل أن تفسِّرها حقيقة أن أساليب التحليل آنذاك لم تكن حسَّاسة بالقدْر الكافي لاكتشاف الكميات الصغيرة من البروتينات، ولكن نظرًا إلى كون الإنزيمات محفزات فعالة، فإنه يمكن اكتشافُ نشاطها حتى في حالة وجود كميات ضئيلة للغاية. لكن في النهاية، سُويت المسألة بما يرتقي إلى دحض حجَّة فريق «الناقل». ففي عشرينيات القرن العشرين، شرع جيمس سومنر في محاولة عزل إنزيم في شكله النقي. لم يكن قد قام أحدٌ حتى ذلك الوقت بهذا الإنجاز، وفي واقع الأمر قد اعتبر العديد من علماء الكيمياء الحيوية حينذاك أنها فكرة مضحكة. لكن ثابر سومنر ولم يتوانَ عن مهمة عزل وتنقية إنزيم اليورياز من فاصوليا جاك. وفي عام ١٩٢٦، آتت جهوده ثمارَها. فقد تمكَّن أخيرًا من التحايل على الإنزيم لاجتياز الاختبار الأخير لتنقية البروتين والتشكُّل في بلورة. أظهرت جهود سومنر بنحو قاطع أن المصدر الوحيد للنشاط الإنزيمي هو البروتين، ومن ثَم كان من المفترض أن تتوقَّف الجدالات بشأن طبيعة الإنزيمات. ولكن نادرًا ما يتخلى العلماء عن نظرياتهم بسهولة. فقد استغرق تسوية الجدال على نحوٍ نهائي إنزيمًا متبلورًا عالي النقاء آخر وهو البيبسين الذي عزله جون نورثروب عام ١٩٢٩.

تركنا قصة التركيب الكيميائي للبروتينات عند حقيقة أنها جزيئات ضخمة تتألف بنحو كبير من الكربون والنيتروجين والهيدروجين والأكسجين بالإضافة إلى مقاديرَ قليلة من الكبريت والفوسفور. وبعد معارضة ليبيج ومولدر، حرص العلماء على استكشاف — بمزيد من التفاصيل — ممَّ تتركب جزيئات البروتينات الكبيرة المسماة حديثًا.

تبيَّن أن الجزء التالي من القصة بسيط للغاية. فالبروتينات يسهُل تحلُّلها بالأحماض. لذا، شرع حشدٌ كامل من الباحثين في دراسةِ ما يتبقى عندما تتفاعل بروتينات متنوعة مع حمض الهيدروكلوريك. وسرعان ما لاحظوا وجودَ العديد من الجزيئات المختلفة في بقايا هذه التفاعلات، ولكن كل هذه الجزيئات كانت تحتوي على مجموعة حمضية (COOH–)

ومجموعة أمينية ($-NH_2$)، ومن ثَم أصبح يطلق عليها الأحماض الأمينية (انظر الشكل ١-١). (بالمناسبة، لا يزال مصطلح «بقايا» مستمرًّا حتى الآن، وقد يشير علماء الكيمياء الحيوية إلى البقايا عندما يقصدون الأحماض الأمينية.)

بعد جميع التحليلات، تبيَّن أن هناك ٢٠ حمضًا أمينيًّا بروتينيًّا شائعًا يوجد بصورة طبيعية (وفي الحقيقة يوجد ما يزيد على ٥٠٠ حمض أميني في الطبيعة، ولكن لم يشفَّر سوى عشرين منها في الشفرة الجينية وهي توجد في البروتينات بوجه عام)، ويعتمد الفرق بينها على شكل السلاسل الجانبية. تتفاوت هذه الأحماض في الحجم والشكل والشحنة، بدايةً من الجلايسين الذي يحتوي على ذرة هيدروجين واحدة للسلسلة الجانبية وحتى أكبر حمض أميني وهو التربتوفان الذي يحتوي على حلقة كربون مزدوجة. يحتوي بعضها على سلاسل جانبية حمضية (الأسبارتات والجلوتامات)، وبعضها قلوي (الأرجينين واللايسين)، والعديد منها زيتي وطارد للماء (مثل اللوسين والفالين). كذلك يوجد حمض شاذ وهو البرولين حيث تلتف سلسلته الجانبية إلى الخلف وتشكِّل حلقة مع السلسلة الأساسية الكربون ألفا. (على وجه الدقة، هذا يجعل البرولين يندرج ضمن الأحماض الأمينية، ولكن يتغاضى علماء الكيمياء الحيوية بوجه عام عن هذا التحذلق الكيميائي.) ومن العشرين حمضًا، لا يحتوي سوى حمضين على الكبريت (ومن هنا تأتي ندرة هذا العنصر في التحليل المبكِّر للبروتينات)، ولا يحتوي أي حمض منها على الفوسفور (وقد تبيَّن أن هذا العنصر يضاف غالبًا في مرحلة متقدمة من عملية تكون البروتين).

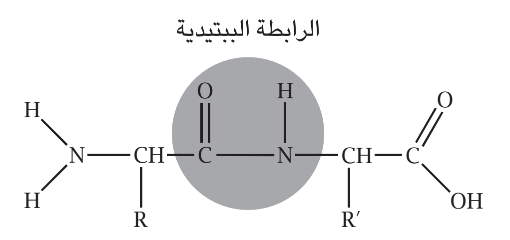
المشكلة التالية التي واجهت علماء الكيمياء الحيوية كانت تحديد طريقة ارتباط الأحماض الأمينية مع بعضها لتكوين البروتينات. حُل هذا اللغز بطريقتين مختلفتين تمامًا في وقت واحد على يد كلٍّ من إميل فيشر وفرانتس هوفميستر. وقد تصادف أن قدَّما نتائجهما في المؤتمر نفسه الذي انعقد في مدينة كارلسباد — التي تتبع جمهورية التشيك في الوقت الراهن — عام ١٩٠٢.

حل هوفميستر المشكلةَ ببعض عمليات الاستنباط الرائعة. فمن وجهة نظر عالِم الكيمياء، توجد طرقٌ عديدة يمكن أن تسلكَها الأحماض الأمينية كي يرتبط بعضها ببعض لتكوِّن جزيئات كبيرة، مثل روابط الكربون–الكربون أو روابط الإثير أو روابط النيتروجين–الكربون. درَس هوفميستر هذه الاحتمالات، ثم حاول معرفة أي الروابط ستؤدي إلى السمات الملحوظة في البروتينات. على سبيل المثال، فكَّر أن المجموعات الحمضية في الأحماض الأمينية لا بد أنها ترتبط بشيءٍ ما (ومن ثَم يبطل تأثيراتها الحمضية) وإلَّا

الفنيلالانين
البرولين
الإيسولوسين
اللوسين
الفالين
الجلايسين
الألانين
التايروسين
التربتوفان
الأسباراجين
الأرجينين
الجلوتامات
الأسبارتات
الجلوتمين
السيستين
الميثيونين
الثريونين
السيرين
اللايسين
الهيستيدين

شكل ١-١: تركيب أشهر عشرين حمضًا أمينيًّا.

فستصبح محاليل البروتين بالغةَ الحموضة (وهي ليست كذلك). وانطلاقًا من مثل هذه الملاحظات، توصَّل هوفميستر إلى أن الأحماض الأمينية في البروتينات لا بد أنها ترتبط عبْر ارتباط المجموعة الحمضية بمجموعة أمينية. وقد أُطلق على تلك الطريقة الخاصة بربط حمض أميني بحمض أميني آخر اسم «الرابطة الببتيدية» (انظر الشكل ١-٢).



شكل ١-٢: الرابطة الببتيدية حسب توضيح هوفميستر وفيشر. يعبر R عن السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية.

في تلك الأثناء، اتَّبع إميل فيشر نهجًا تجريبيًّا تصاعديًّا. بدأ بمجموعة متنوعة من الأحماض الأمينية، ثم حاول ربطها بعضها ببعض بطريقةٍ تفضي إلى شيء يسلك مسلك البروتين. ومن ثَم توصَّل إلى النتيجة التي توصَّل إليها هوفميستر بالضبط، ولكنه اتخذ مسارًا مختلفًا تمامًا. هذه النتيجة ألهبت طموح فيشر لدرجةِ أنه سُمع عام ١٩٠٥ وهو يقول: «تطلعي كلُّه موجَّه إلى أول إنزيم تخليقي». لقد كان هذا بمنزلة طموح عالٍ، لا سيما أن هذا الهدف لم يتحقق حتى تسعينيات القرن العشرين.

من تبعات اكتشاف هوفميستر وفيشر للرابطة الببتيدية إدراكُ أن البروتينات عبارة عن سلاسل (بوليمرات) خطية طويلة تتكوَّن من أحماض أمينية متراصة بعضها خلف بعض. وأصبح يُطلق على السلاسل القصيرة من الأحماض الأمينية المرتبطة بهذه الطريقة اسم الببتيدات، فيما كان يشار إلى السلاسل الأطول باسم عديدات الببتيد. وهنا، تجدُر الإشارة إلى وجودِ طريقة أخرى كثيرًا ما تتبعها الأحماض الأمينية في تكوين الروابط داخل البروتينات. فبإمكان الكبريت الموجود في نهاية السلاسل الجانبية للسيستين الارتباط بعضه مع بعض لتكوين روابطَ ثنائية الكبريت. يضيف هذا الارتباط المتقاطع بعضَ القوة إلى هياكل البروتين، ولذلك غالبًا ما يوجد في البروتينات الهيكلية مثل الكيراتين، الذي يشكل جزءًا كبيرًا من شَعرنا.

من المهم معرفةُ أن البروتينات تتكوَّن من عشرين حمضًا أمينيًّا مختلفًا يرتبط بعضها ببعض عبْر سلاسل، ولكن هذه المعلومة لا تكشف في واقع الأمر الكثيرَ عن ماهية البروتين نفسه. إنها تشبه معرفتنا أن الجُمل في العربية تتكوَّن كلماتها من ثمانية وعشرين حرفًا تبدو متراصة بعضها خلف بعض على السطور، ولكن هذا لا يفيد من دون معلومة أخرى بالغة الأهمية وهي ترتيب الحروف. هكذا كان هو الأمر مع البروتين. فقد كان التحدي الكبير التالي هو اكتشاف تسلسل الأحماض الأمينية في البروتين. اضطُرت الإجابة عن هذا السؤال إلى الانتظار أربعين سنة حتى يظهر طالب الدكتوراه الشاب فريدريك سانجر.

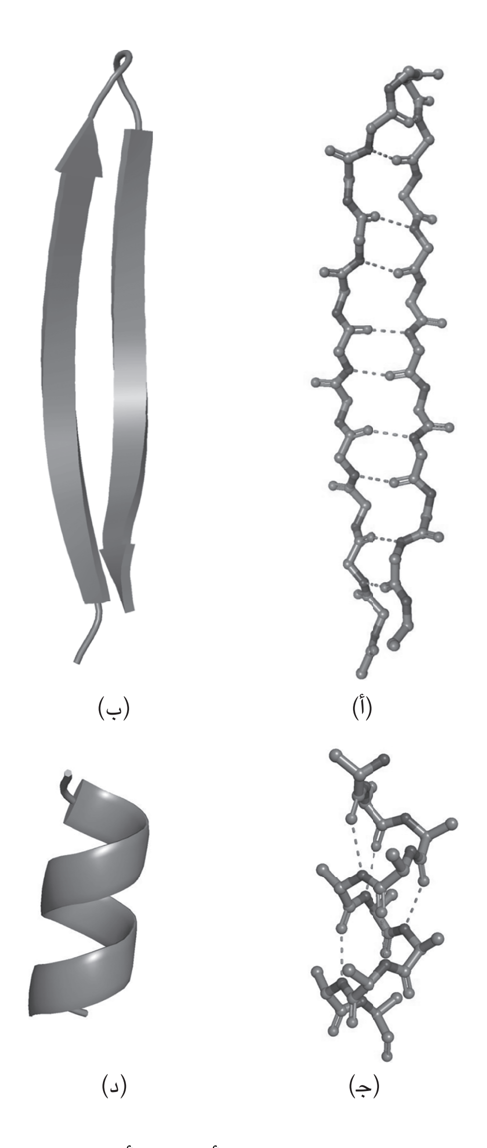
في البداية، كان سانجر يحاول فقط إيجادَ طريقة لتحديد أول حمض أميني في البروتين. وتوصَّل إلى طريقة بسيطة تضمَّنت تفاعل مادة كيميائية تسمَّى ثنائي النتروفلوروبنزين مع نهاية جزيء البروتين. عندما ارتبطت مادة ثنائي النتروفلوروبنزين بالبروتين تحوَّل إلى اللون الأصفر، ثم وضع سانجر المركَّب في حمض، ما أدَّى إلى تكسير البروتين إلى أحماضه الأمينية. وعلى مدار هذه العملية، عادةً ما كانت تبقى مادة ثنائي النتروفلوروبنزين مرتبطةً بأول حمض أميني في السلسلة. بعد ذلك، فصل كل الأحماض الأمينية بعضها عن بعض باستخدام طريقة التفريق اللوني، ثم فصل ببساطة البقعةَ الصفراء من مخطَّط التفريق اللوني وحلَّل محتوياتها.

في بعض الأحيان، لم تكن المادة الناتجة عن تفاعل البروتين مع ثنائي النتروفلوروبنزين مستقرَّة على وجه الخصوص، ومن ثَم عندما كان يضع سانجر المزيجَ في الحمض، كانت تنفصل مادة ثنائي النتروفلوروبنزين. للتغلُّب على هذه المشكلة، جرَّب تحضين البروتين داخل الحمض لفترات أقصر. يبدو أن هذه المحاولة قد أدَّت المهمة؛ فقد بقيت مادة ثنائي النتروفلوروبنزين مرتبطةً بالبروتين. ولكن لم يستمر التفاعل مدةً كافية بحيث يتحلَّل البروتين بالكامل إلى الأحماض الأمينية التي يتكوَّن منها. وهنا، أدرك سانجر أنه محظوظ لأنه لاحظ حينها أنه توجد عدةُ بقع صفراء على ورقة التفريق اللوني. ومن ثَم سرعان ما استخلص أن البقع الصفراء الإضافية ناتجةٌ عن بقاء الروابط كما هي بين الحمض الأميني الأول والحمض الأميني الثاني، وهذا يعني أن الفرصة لم تسنح له لمعرفة الحمض الأميني الأول فحسب، بل لمعرفة الحمض الأميني الثاني أيضًا. وبتمديد الطريقة أكثر، أمكنه التوصُّل إلى تسلسل البروتين الكامل. لكن على الرغم من أنه قد توصَّل بالفعل إلى طريقةٍ لتحديد تسلسل البروتين، فإن العمل الفعلي كان لا يزال شاقًّا للغاية. فقد استغرق عشر سنوات أخرى لتحديد تسلسل الأحماض الأمينية في بروتين واحد وهو الإنسولين. وعلى

الرغم من ذلك، فقد كان لعمله تأثيرٌ كبير؛ إذ بيَّن أن الأحماض الأمينية لها ترتيب محدَّد جدًّا لكل نوع بروتين على حدة. وأصبح هذا الترتيب معروفًا باسم البنية الأولية للبروتينات.

بعد ذلك، أثير السؤال عن كيفية تجمُّع سلاسل الأحماض الأمينية هذه في أشكال معينة. تتطلب الإجابة عن هذا السؤال معلومتين إضافيتين وهما: شكل الأحماض الأمينية بالإضافة إلى معرفة قوى الجذب والطرد بينها. قوى الجذب والطرد طرحها عالِم الكيمياء العظيم لينوس بولينج. ففي كتابه الصادر عام ١٩٣٩ بعنوان «طبيعة الرابطة الكيميائية»، ذكر كيف أن روابط الهيدروجين لها دورٌ مهم في تحديد تكوين البروتينات. تحدُث عمليات الجذب الإلكتروستاتي الضعيفة هذه عندما ترتبط ذرات الهيدروجين ارتباطًا تساهميًّا مع الذرات الكهربائية السالبة (مثل النيتروجين والأكسجين)؛ وتفضي هذه العمليات إلى سَحْب قدرٍ من شحنة الإلكترون في الهيدروجين، ومن ثَم تترك الهيدروجين مشحونًا بشحنة موجبة خفيفة. وإذا نظرت في بنية الأحماض الأمينية في سلسلة عديد ببتيد، فستلاحظ أن هذا الموقف يحدُث في المجموعات الأمينية التي تفصِل بينها مسافات منتظمة (NH–). من جهة أخرى، تكون مجموعاتٌ كيميائية أخرى — أبرزها مجموعات الكربونيل ذات المسافات المنتظمة المتساوية (C=O) بشحنة سالبة خفيفة بسبب وجود زوج من الإلكترونات. ونتيجة لذلك، تنجذب المجموعات الأمينية ذات الشحنة الموجبة إلى مجموعات الكربونيل ذات الشحنة السالبة. ولما كانت سلاسل عديد الببتيد مليئة بهذه الشحنات، فإن السلسلة تلتصق بعضها ببعض التصاقًا فعالًا.

في تلك الأثناء، قدَّم روبرت كوري شكلَ قِطَع الأحجية البالغ عددُها عشرين قطعة، وذلك عندما حدَّد بنيةَ الأحماض الأمينية الفردية. وفي عام ١٩٥٠، تعاون كلٌّ من بولينج وكوري وجمعا المعلومات بشأن روابط الهيدروجين والقيود الفيزيائية لِبنيات الأحماض الأمينية، واكتشفا، بعد أن وضعاها في شكل أحجيةٍ صورٍ مقطَّعةٍ جزيئية ثلاثية الأبعاد، وجودَ ثلاث «بنيات ثانوية». أطلقا على البنية الأولى اسم لولب ألفا، وهي تنتظم في شكلٍ يشبه دَرج السُّلم الحلزوني. في لولب ألفا، تشير السلاسل الجانبية نحو الخارج مثل خطوات الدَّرج (انظر الشكل ١-٣). تتماسك البنية بعضها ببعض بفضل روابط الهيدروجين بين الأحماض الأمينية المتراصة بعضها فوق بعض مباشرةً في اللولب، والتي يفصل بينها ثلاثة أو أربعة أحماض أمينية في التسلسل الأساسي. البنية الثانية هي شريط بيتا (انظر الشكل ١-٣)؛ وفي هذه البنية تمتد سلسلة عديد الببتيد. يتراص العديد من أشرطة بيتا بعضُها بجانب بعض، وقد يلتصق بعضها ببعض عبْر روابط الهيدروجين وتكوِّن صفائحَ بيتا. المدهش أن بولينج وكوري طرحا هذه التنبؤات من دون أن يكون لديهما أي بيانات من



شكل ١-٣: تمثيلات للبنية الثانوية شريط بيتا (أ) ولولب ألفا (ب)؛ يبين نموذج كرة وعصا الروابط والذرات في السلسلة الأساسية، والخطوط المنقَّطة تعبِّر عن روابط الهيدروجين بين مجموعات الكربونيل ومجموعات الأميد (ج)؛ والامتداد من البروتين نفسه يعبَّر عنه برسم توضيحي «كرتوني» أبسط (د).

بروتين سليم، لكن عند تحديد أول بنيات عالية الدقة للبروتينات بعد عدة سنوات، فلا بد أن لوالب ألفا وصفائح بيتا كانت موجودة. كذلك تشير الدقة المذهلة لهذه التنبؤات إلى أن علماء الكيمياء الحيوية في الوقت الراهن يميلون إلى التغاضي (أو غض الطرْف) عن خطأ في أحد تنبؤات بولينج وكوري؛ حيث إن البنية الثانوية الثالثة التي اكتشفاها — اللولب جاما — لم تُرصد في الطبيعة مطلقًا.

البنيات العالية الدقة

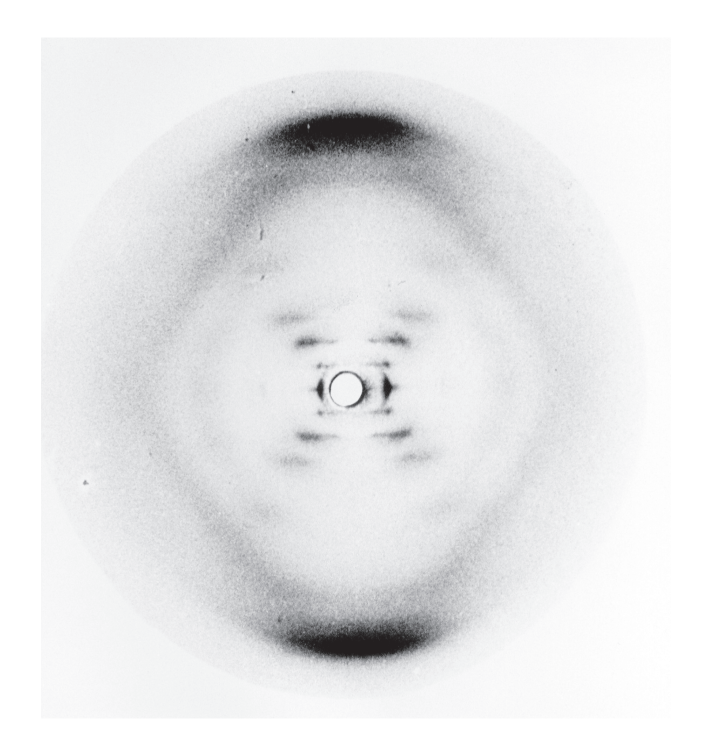
تطلب تحديد بنية البروتينات ومن ثَم تأكيد تنبؤات بولينج وكوري، إدخالَ تطوير كبير في الطريقة نفسها (التصوير البلوري بالأشعة السينية) التي كان قد استخدمها كوري لتحديد بنيات الأحماض الأمينية. فالبروتينات أكبرُ من الأحماض الأمينية بكثير وأعقد منها؛ ولذا فهي كانت تفرض تحدياتٍ كبرى.

ظهر التصوير البلوري بالأشعة السينية للنور في أوائل القرن العشرين على يدِ فريق مكوَّن من أب وابنه. أعدَّ ويليام هنري براج وولده ويليام لورانس براج بلورةً نقية من ملح الطعام وسلَّطا عليها الأشعة السينية، ما نتج عنه نمطٌ هندسي من البقع التي ظهرت على جهاز الكشف. سبق أن نفَّذ آخرون تجاربَ مماثلة، ولكن آل براج أحدثا قفزةً حدسية بالغة الأهمية. فقد أدركا أن هناك معلومات عن البنية الجزيئية للملح مختفية في تنظيم البقع وكثافاتها. عندئذٍ، توصَّل لورانس براج إلى صيغةٍ رياضية تُعرف الآن باسم قانون براج، وهذه الصيغة يمكن استخدامها لاستخلاص هذه المعلومات، ما أتاح له التوصُّل إلى طريقة تنظيم ذرات الصوديوم والكلور في بلورة الملح.

بتنا نعرف اليوم أن البلورات تتكوَّن من جزيئات تتراص ذراتها بأنماط منتظمة. تضرب الأشعة السينية إلكترونات هذه الذرات المنتظمة وتتشتَّت وتذهب للتفاعل مع الأشعة السينية المشتَّتة الأخرى بحيث تكوِّن نمط انحراف، كالذي يحدُث حينما تواجه أيُّ أشكال موجية عوائقَ. إن نمط الانحراف هذا هو الذي التقطه آل براج على اللوح الفوتوغرافي.

قد يصعب فهْم الصلة بين نمط الانحراف والبنية. وللمساعدة في توضيح الأمور، لنأخذ جزيئًا معروفًا وبسيطًا نسبيًّا، وهو الدي إن إيه (الحمض النووي الريبوزي المنقوص الأكسجين) (والذي سنتناول تاريخه بعد قليل). توجد صورة يعرفها علماء الكيمياء الحيوية جيدًا وهي معروفة باسم «الصورة ٥١»، وهي عبارة عن نمط انحراف للدي إن إيه التقطها رايموند جوزلينج تحت إشراف روزاليند فرانكلين عام ١٩٥٢ (انظر الشكل ١-٤).

هذه الصورة تراها أعينُ غير المتخصصين مجردَ حرف إكس متقطع غريب الشكل. ومن ثَم يصعب أن نرى كيف أمكن استنتاج بنية الدي إن إيه منها. لكن في نظر فرانكلين وزملائها، فقد كان واضحًا أن البلورة لا بد أنها لولب.



شكل ١-٤: «الصورة ٥١»، نمط الانحراف للأشعة السينية الذي أنتجه فرانكلين وجوزلينج وكشفَ عن بنية اللولب المزدوج للدي إن إيه.

قد تبدو هذه القفزة من حرف الإكس المتقطع إلى اللولب مبالغة، ولكن في الحقيقة لا صعوبة البتة في إثباتها. كلُّ ما تحتاج إليه هو مؤشِّر ليزر وزنبرك من قلم حبر جاف قابل للسَّحب. ما عليك سوى تسليط ضوء الليزر من خلال الزنبرك على حائط على بُعد ثلاثة أمتار تقريبًا. من المفترض أن ترى شكل حرف إكس يشبه الشكل في الصورة ٥١ تشابهًا لافتًا للنظر. شكل حرف الإكس ناتج عن انحراف ضوء الليزر بسبب الزنبرك، وببضع معادلات بسيطة يمكنك التوصُّل إلى شكل الزنبرك من سِمات شكل حرف الإكس

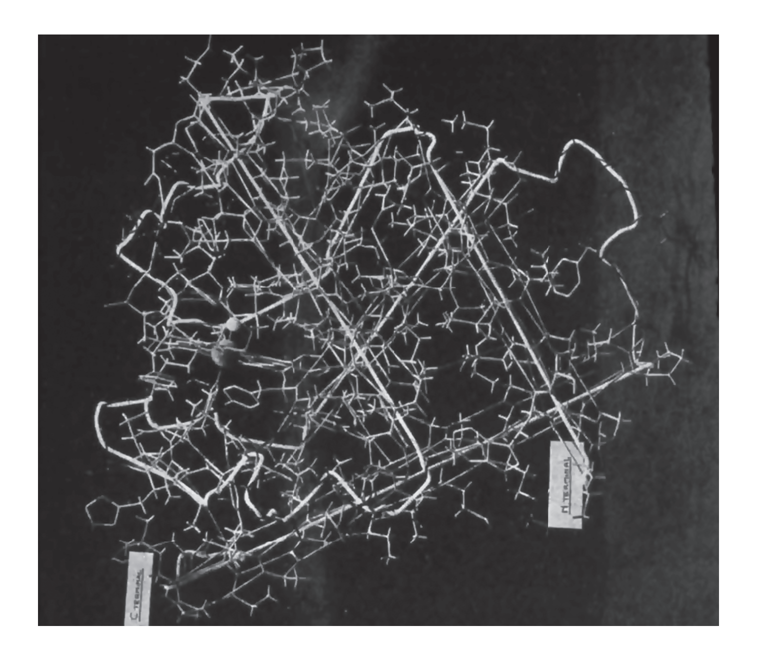
على الحائط. وبطريقةٍ مماثلة، تتضمَّن «الصورة ٥١» معلوماتٍ وجَّهت بناء نموذج اللولب المزدوج للدي إن إيه.

لا شك أن «الصورة ٥١» كانت بمثابة لحظة فارقة في علم الأحياء البنيوي، ولكنها لم تقدِّم الكثير من المعلومات. صحيح أنها كشفت عن البنية اللولبية الكلية للدي إن إيه، لكنها لم تكشف عن تنظيم الذرات داخل الجزيء. وفي حالة الدي إن إيه، كان بإمكانِ كلٍّ من جيمس واتسون وفرانسيس كريك وموريس ويلكنز طرْح تخمين جيد مبنيٍّ على علم بشأن تنظيم الذرات بترتيب نماذج لمكوِّنات الدي إن إيه الكيميائية باستخدام الورق المقوى حتى وفقوها مع البنية الكلية التي تنبَّأت بها بيانات فرانكلين وجوزلينج. لكن البروتينات كيانات أعقدُ بكثير، وقد تطلَّب بناء بنياتها التفصيلية دقةً على المستوى الذري لأنماط الانحراف.

كما رأينا للتو، بإمكان البروتينات تكوين بلورات؛ وفي عشرينيات القرن العشرين أنتج سومنر ونورثروب بلورات من إنزيم اليورياز وإنزيم الببسين لإثبات أن الإنزيمات بروتينات. لكن في عام ١٨٣٩ من قبلهما، اكتُشفت أول بلورات بروتينية من الهيموجلوبين. ومن ثَم لم تكن قفزة بديهية كثيرًا أن تُعرض بلورات البروتينات للأشعة السينية في محاولةٍ لتحديد بنياتها. وأول محاولة جادة في هذا الصدد نفَّذتها دوروثي كروفوت هودجكن وجون برنال (وهو أحد طلاب ويليام براج) عام ١٩٣٤. فقد كرَّرا بلورات الببسين التي توصَّل إليها نورثروب، ثم وجَّها الأشعة السينية عبْرها. وكانت النتيجةُ أولَ نمط انحراف ذي دقة رائعة لأحد أنواع البروتين.

أحدثَ وضوحُ صورة الببسين — وكذلك صور البروتينات الأخرى التي تلتها — قدرًا كبيرًا من البهجة؛ حيث إنه أصبح ممكنًا تحديد المسافات التي توجد بين الذرات داخل البروتين. وعلى الرغم من ذلك، لا بد أنه كان أمرًا محبطًا للغاية رؤية البقع وكثافاتها مع العلم أنها تشفِّر مواقعَ الذرات داخل البروتين، ولكن مع الافتقار إلى الأدوات اللازمة لفك رموز الأنماط بالكامل. كان يكمُن لبُّ المشكلة في عدم توافر طريقة — آنذاك — لاستخدام تلك المعلومات من أجل تحديد مواقع الذرات بعضها بالنسبة إلى البعض.

جرى تخطِّي المشكلة أخيرًا عندما أحللنا معادنَ ثقيلة محلَّ بعض الذرات في البروتين. فالذرات الأثقل شتَّتت الأشعة السينية بقوة أكبرَ بكثير من ذرات البروتين الأصلية ذات الوزن الأخف، ما أتاح تمييزها بعضها من بعض. ومن الناحية العملية، فهذا النهج كان بالغ الصعوبة نظرًا إلى وجود احتمال كبير لأن يربِك استبدال المعادن بنيةَ البروتين. لذا،



شكل ١-٥: أول صورة عالية الوضوح لبنية بروتين الميوجلوبين والمنشورة عام ١٩٦١.

تطلَّب هذا الأسلوب تنفيذَ عدة عمليات استبدال ومقارنات مع أنماط انحراف البروتينات الأصلية بهدف الوصول إلى المواضع التي يمكن أن تتحمَّل فرضَ ذرات ثقيلة في البروتينات.

بالإضافة إلى هذه الحلول الفنية، كان لا بد من تطوُّرات حوسبية ورياضية هائلة للتعامل مع الآلاف العديدة من الذرات التي تكوِّن البروتينات والعدد الهائل من الطُّرق التي تنظَّم بها هذه الذرات. وكان هذا يعني فاصلًا زمنيًّا مقداره ست وعشرون سنة بين أول صورة واضحة لبروتين الببسين وأول صورة عالية الدقة لبنية بروتين. ففي عام ١٩٦١، نشر جون كندرو بنيةَ الميوجلوبين (انظر الشكل ١-٥)، وبعده ببضع سنوات نشر ديفيد فيليب بنيةَ اللايسوزايم، ونشر ماكس بيروتس بنيةَ الهيموجلوبين (أي، بعد ما يقرُب من ١٢٩ سنة من أول عملية بلورة لذلك البروتين بالتحديد). وفي السنوات الفاصلة، استكشفت دوروثي هودجكن بنيةَ جزيئاتٍ أبسط، ومنها الدواء العجيب في عصره وهو البنسلين. لكن ظلَّ اهتمامها منصبًّا على البروتينات، لا سيما الإنسولين. وفي عام ١٩٦٩، جنَت أخيرًا ثمارَ سعيها الذي امتد خمسًا وثلاثين سنة بحثًا عن بنية ذلك الهرمون بالتحديد.

لا يمكن الاستهانةُ بالمساهمة التي قدَّمها التصوير البلوري بالأشعة السينية لعلم الأحياء البنيوي. فمنذ زمنِ آلِ براج، مُنحت جائزة نوبل حوالي ثلاثين مرة (إلى علماء العلوم الحيوية، ومنهم بيروتس وكندرو وهودجكن) نظيرَ الاكتشافات التي أسفر عنها الاستخدامُ المباشِر لطرقِ التصوير البلوري وأساليبه، ومنها تحديدُ بنيات العديد من الجزيئات الحيوية مثل الفيتامينات والمضادات الحيوية والبروتينات وبالطبع الدي إن إيه.

كشفت البنياتُ العالية الدقة الأولى هذه لبروتينات الميوجلوبين والهيموجلوبين واللايسوزايم عن الالتفافات والانحناءات في سلسلة عديد الببتيد، وأكَّدت البنية الثانوية التي تنبَّأ بها بولينج وكوري. كذلك كشفت عن المستوى التالي من تعقيد البروتين، وهو البنية الثلاثية، الثلاثية الأبعاد. بالتوصُّل إلى هذه البنيات، أصبح أخيرًا بإمكان علماء الكيمياء الحيوية دراسةُ البروتينات بصورتها الكاملة. ومكَّنهم هذا من فهْم الآلية الجزيئية التي تقوم عليها أعمالها وكيمياء الحياة التي تتحكَّم بها. أما قبل ذلك، فكانت محاولة فهْم البروتينات تشبه التكهُّن بأعمال محرِّك احتراق عن طريق فحص كل جزء على حدة، ولكن الآن أمكن فحصُ الآلة وهي مجمَّعة بالكامل. وهذا ما سنفعله على وجه التحديد في الفصل الثالث.

الدي إن إيه

قصة الدي إن إيه أبسطُ من قصة البروتينات نوعًا ما، وغالبًا ما كان يعود السببُ إلى عدمِ فهْم أهميته لفترة طويلة، ولأنه جزيء أقلُّ تعقيدًا.

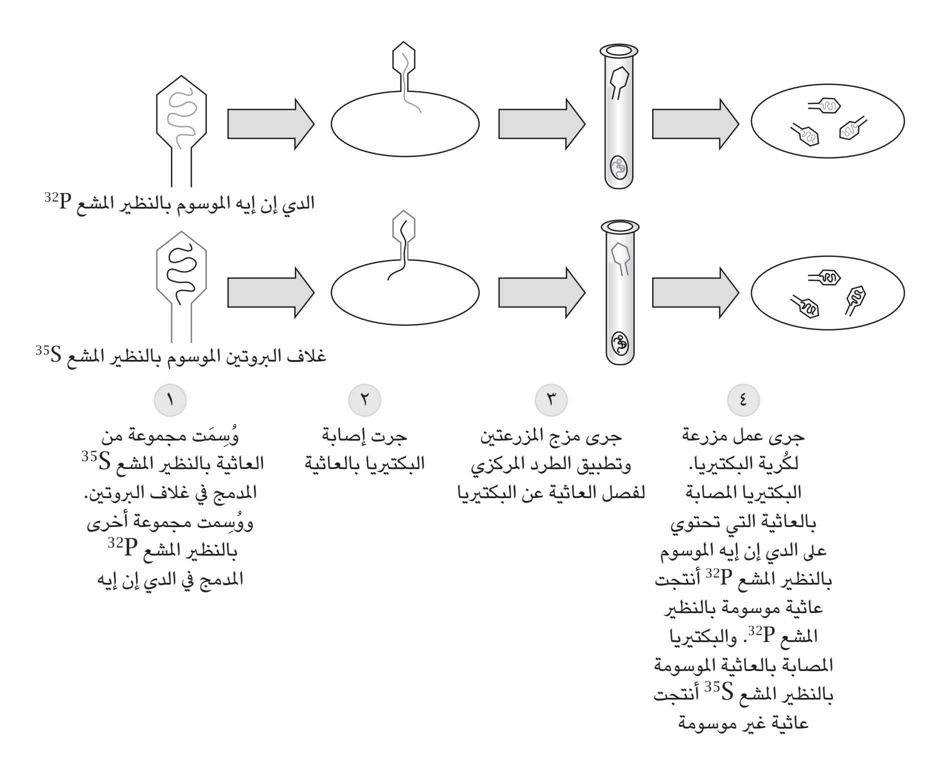
أجرى «أبو علم الوراثة» جريجور مندل تجاربَه الشهيرة على الوراثة باستخدام البازلاء عام ١٨٤٣. حينذاك، بالطبع لم تكن الجزيئات وآليات الوراثة معروفة، ومن ثَم لم يكن ليتم الربط على نحوٍ واضح بين الوراثة والدي إن إيه لما يزيد على مائة عام أخرى. اتخذ يوهان فريدريش ميشر — الطالب بجامعة توبينغن بألمانيا — الخطوات الأولى في هذا المسار بعد عملِ مندل بفترة قصيرة في عام ١٨٦٩. حينها كان قد تولَّى مهمةَ دراسة التركيب الكيميائي لخلايا الدم البيضاء. لكن لسوء حظه، كانت أفضل مصادر الحصول على هذه الخلايا هي الضمادات المشبَّعة بالقيح من مرضى العمليات الجراحية المتعافين (لكنه وجَّه انتباهه إلى مصدرٍ ألطفَ بكثير لتلك الخلايا وهو بطارخ سمك السلمون). بعد إزالة البروتينات والليبيدات، توصَّل إلى مادة أخرى تتصرَّف بطريقة مختلفة ولها تركيبة كيميائية مميزة. وعلى خلاف البروتينات، فقد كانت هذه المادة على وجه الخصوص

غنيةً بالفوسفات. ولمَّا كانت هذه المادة الجديدة يبدو أنها تستقر في أنوية الخلايا، أسماها النيوكلين. وبعد مرور ما يقرُب من عشرين عامًا، أوضح ريتشارد ألتمان — طالب ميشر — أن مادة النيوكلين كانت حمضية وأعاد تسميتها بالحمض النووي.

الخطوة الكبيرة التالية اتخذها فيبس ليفين، وهو عالِم كيمياء ذو إنتاج غزير نشر ما يزيد على ٧٠٠ ورقة بحثية على مدى مسيرته المهنية. فعلى مدى عقدين في أوائل القرن العشرين، درس ليفين لَبنات البناء في الأحماض النووية وكشف أنها تتكوَّن من ثلاثة مكوِّنات كيميائية مميزة وهي: مجموعة فوسفات وسكر ذو خمس ذرات كربون (ريبوز)، وبنية من أربع بنيات حلقية تضم أربع ذرات نيتروجين تسمَّى القواعد (الجوانين والأدينين والسايتوسين والثايمين، في حالة الدي إن إيه)، وهي القواعد التي تعطينا «الحروف» المألوفة A وT وG وC التي تحدِّد أي تسلسل دي إن إيه. وبنفس القدْر من الأهمية، توصَّل ليفين أيضًا إلى كيفية ربط المكونات الثلاثة بعضها مع بعض، بحيث تشكِّل ما أسماه النيوكليوتيدات (سنتناول بنية هذه المكونات في الفصل الرابع).

في أوائل القرن العشرين، كان علماء الكيمياء الحيوية يتقدَّمون ببطء تجاه معرفة الصلة بين الدي إن إيه والوراثة. فقد توصَّل والتر ساتون وثيودور بوفري، كلٌّ بمفرده، إلى أن الكروموسومات هي حاملات المادة الوراثية. وبطريقة غريبة كاد عالِم الأحياء الروسي العظيم نيكولاي كولتسوف (عام ١٩٢٧) أن يصف الآلية التي يستخدمها الدي إن إيه في التضاعف وتخزين المعلومات. فقد تنبأ بأن الوراثة تحدُث عبْر «جزيء وراثة ضخم» يتكوَّن من «شريطين متطابقين يتضاعفان بطريقةٍ شبه محافظة مع استخدام كل شريط كقالب». ورغم تبصُّره بشأن آليات الوراثة، فلم يتمكَّن من السباحة ضد تيار التفكير العلمي السائد حينذاك، ومن ثَم ظل يفترض أن البروتينات هي الكيانات التي تخزِّن المعلومات الوراثية.

ظلَّ هذا الافتراض سائدًا إلى حدٍّ كبير حتى عام ١٩٤٤ حينما أجرى كلٌّ من أوزوالد إفيري وكولن ماكلاود وماكلن مكارتي دراسةً دقيقة توضِّح أنه يمكن تعديل السِّمات (النمط الظاهري) الخاصة بالبكتيريا عن طريق «تحويلها» باستخدام الدي إن إيه ولا شيء غيره. لقد غُرس آخر مسمار في نعش نظرية الوراثة القائمة على البروتينات (حتى ثورة التخلق المتوالي، ولكن هذا يستحق مقدِّمة قصيرة جدًّا أخرى) بعد بضع سنوات أخرى بفضل العمل الرائع الذي قامت به مارثا تشيس وألفريد هيرشي (انظر الشكل ١-٦). آنذاك، كان معروفًا أن العاثيات (أي، الفيروسات التي تصيب البكتيريا) تتكوَّن من



شكل ١-٦: تجربة هيرشي وتشيس. جرت إصابة البكتيريا بالبروتين أو الدي إن إيه الموسوم إشعاعيًّا للعاثية. لم يدخل إلى خلايا البكتيريا غير النظير المشع ^{32}P، ما يدُل على أن الدي إن إيه هو المادة الوراثية وليس البروتين.

طبقة بروتين تغلِّف الدي إن إيه. استخدمت تشيس وهيرشي النظيرَ المشع للكبريت (^{35}S) لوسم البروتين، والنظيرَ المشع للفوسفور (^{32}P) لوسم الدي إن إيه. وبعد ذلك، أصابا البكتيريا بالعاثية الموسومة. أنتجت البكتيريا المصابة المزيدَ من العاثيات، ما يدُل على نقل المادة الجينية إلى البكتيريا. لكن لم تُكتشف آثار الإشعاع إلا في البكتيريا التي أُصيبت بالدي إن إيه الموسوم دونًا عن البروتين الموسوم. وبذلك أثبتت تشيس وهيرشي إثباتًا قاطعًا أن الدي إن إيه هو الجزيء المسئول عن الوراثة. حاز العمل التقديرَ ونال عليه هيرشي جائزةَ نوبل. لكن لم يرِد أيُّ ذكر لمارثا تشيس حتى في خطاب قبول هيرشي للجائزة.

وعلى الرغم من تجارب تشيس وهيرشي، فإنه كان لا يزال خفيًّا كيف يحمل الدي إن إيه المعلومات الوراثية. برز مؤشر مهم من عمل إرفين شارجاف عام ١٩٥٠. فقد اكتشف أنه بغض النظر عن الكائن الحي مصدر الدي إن إيه، فإن الأدينين تتساوى كميته مع كمية الثايمين، وكذلك تتساوى كميتا السايتوسين والجوانين. وكان هذا الاكتشاف مهمًّا جدًّا لجيمس واتسون وفرانسيس كريك عندما شرعا بعد عام في التعرُّف على بنية الدي إن إيه. قيدت قاعدة شارجاف كيف يمكن أن يبني العالِمان الشهيران نماذجهما (التي استخدما لها قصاصات بسيطة من الورق المقوى لتمثيل القواعد ثم علَّقاها في دعامات فوسفاتية لها إطار سلكي)؛ إذ كانت تعني ضرورة أن تقترن قواعدُ الأدينين مع قواعد الثايمين، وكذلك الحال مع قواعد السايتوسين وقواعد الجوانين. اقترح هذا من فوره وجودَ شريطين متصلين من الدي إن إيه قواعدهما مواجهة بعضها لبعض، والشريطان يرتبطان أحدهما بالآخر عن طريق روابط الهيدروجين. وبالجمع بين هذه التجربة وبيانات التصوير البلوري بالأشعة السينية التي توصَّل إليها فرانكلين وجوزلينج، اقتُرح أن الدي إن إيه يتكوَّن من شريطين يلتفَّان أحدهما حول الآخر ليشكِّلا لولبًا مزدوجًا.

تجدُر الإشارة إلى وجود اهتمام كبير في ذلك الوقت ببنية الدي إن إيه، وكانت تتبارى العديد من المجموعات الأخرى مع فريق المملكة المتحدة للوصول إلى الحل، لا سيما العالمان العظيمان لينوس بولينج وروبرت كوري. في الحقيقة، ظنَّا أنهما قد وصلا إلى البنية وهُرعا إلى نشرها في ورقة بحثية في فبراير عام ١٩٥٣ والتي كانت تصف دي إن إيه لولبيًّا ثلاثيَّ الأشرطة، حيث يتوسط شريط الفوسفات شريطَي القواعد التي تشير إلى الخارج. كانت هذه البنية الغريبة حتى أكثر غرابة؛ حيث إن بولينج في تعجُّله تجاهلَ بطريقةٍ ما روابطَ الهيدروجين التي كان هو أول مَن وصفها.

وبعد بضعة أيام فقط من ظهور نتائج بحْث بولينج المتعجِّل وغير المدروس على نحوٍ جيد في الصحف، تحلَّى واتسون وكريك بالثقة الكافية للإعلان عن بِنية الدي إن إيه التي توصَّلا إليها، والتي أصبحت بنيةً أيقونية الآن. معروف أن إعلانهما لم يكن في دائرة الضوء ضمن مؤتمر علمي أو على صفحات مجلة علمية معروفة، بل كان وسط جمعٍ يتناول الغداء في حانة إيجل بكامبريدج. لم يمرَّ وقتٌ طويل حتى اتَّبعا طرقًا أنسبَ بالفعل للإعلان عن عملهما. ففي أبريل ١٩٥٣، نشرا — ومعهما ويلكنز وجوزلينج وفرانكلين — سلسلةً من الأوراق البحثية المتتالية بلغ عددُها ثلاثًا في مجلة «نيتشر» التي وصفت بنيةَ الدي إن إيه وكيف جرى التوصُّل إليها. ومن بنيةِ اللولب المزدوج هذه، اتضح على الفور كيف يخزِّن

الدي إن إيه المادةَ الوراثية. وبالفعل، فقد ثبتَت صحةُ وصف كولستوف بأن الدي إن إيه جزيء عملاق ذو شريطين متطابقين، أحدهما قالبٌ للآخر (حتى لو كان كولستوف قد أخطأ في فهْم الجزيئات الضخمة).

ومن ثَم، وبحلول منتصف القرن العشرين، اتضحت بنيتا اللاعبين الجزيئيين الكبيرين، البروتين والدي إن إيه — وكذلك قريبه الآر إن إيه (الحمض النووي الريبوزي) — وأدوارها التي لا تُحصى (والتي سنتناولها لاحقًا). وقد أصبح من الواضح أنها الآلات الجزيئية الأساسية التي تنظِّم الكيمياء داخل الخلايا.

الفصل الثاني

الماء والليبيدات والكربوهيدرات

قبل أن نغوصَ أكثرَ في عالَم البروتينات والحمض النووي وننجرفَ إلى تعقيدهما الرائع، حري بنا أن نلقي نظرةً على جزيئاتٍ أبسط ولكنها لا تقل أهمية؛ إنها الجزيئات التي تكوِّن البنيات المادية التي تربط الخلايا وتوفِّر الوسط الذي تحدُث فيه كيمياء الحياة.

الماء

بينما نتنقل بين أغصان شجرة الحياة، نرى الكثير من التباينات، لكن يبقى جزيء واحد ثابت على الدوام. فأينما وُجد الماء، على كوكب الأرض على الأقل، وُجدت الحياة؛ ولا تزدهر الحياة من دون الماء. لذا، حُق أن يُدرس دَور الماء في الكيمياء الحيوية وما الذي يجعله يتفرَّد في دعم الحياة (كما نعلمها).

لأن الماء غزير بطبيعته، من السهل تجاهلُ خصائصه المميزة والغريبة بنحو واضح، والتي من دونها لن توجد الحياة. عندما تحتسي مشروبًا به قِطع ثلج في عصر يوم صيفي، تتجلَّى بوضوح خاصيةٌ من خصائص الماء وهي طفو الثلج على السطح. ولأن أعيننا أَلِفت أن ترى خاصية طفو الثلج، فقد لا ترصد أيَّ قدْر من الغرابة فيها. لكنَّ رؤيةَ شكل صلب من مادةٍ يطفو على سطح حالتها السائلة خاصيةٌ غير عادية بالفعل إلى حد بعيد. وتوضيحًا لمدى أهمية هذه الخاصية، لِنجرِ تجربة فكرية سريعة. تخيَّل لو أن كثافة الثلج أكبرُ من الماء، وغاص الثلج في أعماق إحدى البحيرات أو البحار بعد تكوُّنه. حينها لن يطول الوقت قبل أن يتجمَّد المسطح المائي بالأعلى ويحبس أيَّ كائنات حية داخله. لكن لحسن الحظ وبفضل السلوك الغريب للماء، فإن الثلج الطافي يكوِّن طبقةً عازلة على سطح الماء ما يعين على استمرار الحياة بالأسفل.

بالنسبة إلى جزيء بمثل حجمه، يتحوَّل الماء إلى الحالة السائلة حينما يكون في درجات حرارة عالية وعبْر نطاق كبير للغاية (١٠٠ درجة مئوية)، وهو ما يتطابق على نحوٍ ملائم مع البيئة المحيطة على معظم أجزاء كوكب الأرض. وبالمقارنة، فإن الجزيئات المماثلة مثل كبريتيد الهيدروجين (H_2S) (الذي نقطة انصهاره ٤٨ درجة مئوية تحت الصفر ونقطة غليانه ٦٢ درجة مئوية تحت الصفر) وسيلينيد الهيدروجين (H_2Se) (الذي يكون سائلًا فيما بين ٤٢ و٦٤ درجة مئوية تحت الصفر) تكون في الحالة السائلة عبْر نطاق يبلغ ٢٠ درجة مئوية فقط وفي درجات الحرارة التي تقل عن الصفر.

من الواضح أن هاتين الخاصيتين الفيزيائيتين أساسيتان لبقاء الحياة، ولكن توجد خاصية كيميائية ثالثة لا تقل أهمية كما أنها جوهرية في الكيمياء الحيوية؛ فبنية الماء وتركيبته تجعلانه مذيبًا جيدًا إلى أبعد الحدود. إن الماء يتكوَّن من ذرَّتي هيدروجين تتوسطهما ذرة أكسجين وتتشارك كلٌّ من ذرتَي الهيدروجين مع ذرة الأكسجين زوجًا من الإلكترونات. إن الأكسجين كهربائي سالب، ومن ثَم يسحب قدْرًا من الشحنة السالبة للإلكترونات تجاه مركز الجزيء، ما يترك ذرتَي الهيدروجين بشحنة موجبة قليلة. ويصف علماء الكيمياء الجزيئات التي لها هذا النوع من توزيع الشحنات بأنها جزيئات قطبية. والنتيجة أن هذه المركَّبات القطبية تتساوى براعتها في التفاعل مع كلٍّ من الجزيئات السالبة والموجبة الشحنة على السواء. لنضرب المثَل بملح الطعام العادي؛ أي، كلوريد الصوديوم (NaCl). فعند إضافة ملح الطعام إلى الماء، فإنه يتأيَّن إلى Na^+ وCl^-. يكوِّن الماء ما يُعرف بقشرة التذاوب حول أيون الصوديوم الموجب عن طريق توجيه الأكسجين ذي الشحنة الموجبة الخاص به تجاهه، وفي الوقت نفسه يتكيَّف الماء مع الكلوريد السالب عن طريق إحاطته بذرتَي الهيدروجين الموجبتين. وبالمثل، عندما يحتوي جزيء على مزيج من الشحنات الموجبة والسالبة على سطحه، فإن جزيئات الماء تكيِّف اتجاهها بحيث تغلف الجزيء بالكامل. لقد اعتدنا رؤيةَ الملح والسكَّر وهما مختفيان تقريبًا في الماء لدرجةِ أن الأمر لا يبدو مهمًّا. لكن لا يوجد شيء آخر يذيب الجزيئات بهذا الشكل بحيث يسهُل توافرها للكيمياء الحيوية للخلايا.

هناك نتيجة أخرى لهذه القطبية، وهي أن الماء يمكن أن يشارك في روابط الهيدروجين الضعيفة والبالغة الأهمية في الوقت نفسه. وهنا، يجري «منح» ذرات الهيدروجين ذات الشحنة الموجبة جزئيًّا إلى «المستقبِل» ذي الشحنة السالبة جزئيًّا مثل ذرات الأكسجين في الماء. بإمكان كل جزيء ماء أن يمنح ويستقبل ذرتَي هيدروجين، ما يكوِّن أربع روابط

هيدروجين. وهذا ينشئ شبكةً من التفاعلات تؤدي إلى نقطتَي انصهار وغليان عاليتين للماء، مقارنةً بالجزيئات المماثلة. كذلك هذا يتيح للبروتونات أن تتنقَّل بين الماء والجزيئات الأخرى، وهذه الظاهرة يتكرَّر حدوثُها على نحوٍ غير متوقَّع في أثناء التفاعلات الكيميائية الحيوية.

تفضي شبكة روابط الهيدروجين أيضًا إلى تأثير طارد للماء، وهذا التأثير جوهري في طريقة تكوين البنيات الحيوية. سترى هذا التأثير عمليًّا عند تحضير تتبيلة السَّلطة. افتقار الماء إلى خاصية الذوبان يعني أن الماء لا يستطيع أن يمتزجَ بالمواد الدهنية غير القطبية. فالزيوت والدهون والشموع لا تحتوي على العديد (أو أحيانًا على أيٍّ) من المجموعات المشحونة التي يمكن أن ترتبط بها الأجزاء القطبية من الماء. ووجودها في الماء السائل يربك شبكةَ روابط الهيدروجين، ما يؤدي إلى تجمُّع المادة الطاردة للماء بعضها مع بعض، ومن ثَم تقل المساحة المتصلة بالماء. هذا التأثير الطارد للماء لا يؤدي إلى عزل الزيت عن الماء في التتبيلة الفرنسية التي تُحضرها فحسب، بل أيضًا إلى التجميع الذاتي للبروتينات والأغشية الحيوية، وهو أمرٌ سنتناوله بمزيد من التفصيل قريبًا.

الليبيدات

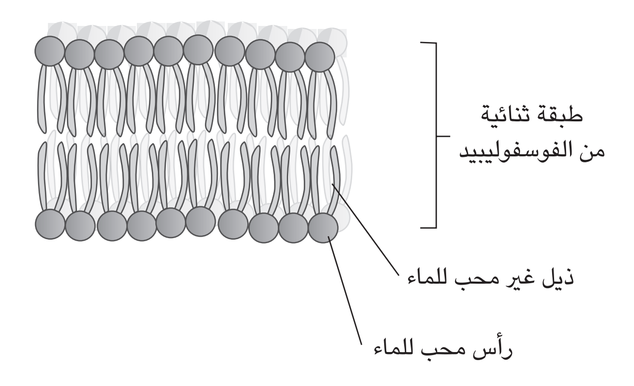
الليبيدات فئةٌ ذات تنوُّع واسع من الجزيئات، ولكن تحتوي جميعها بوجه عام على مكوِّن مهم غير محب للماء، قد يتخذ شكل سلاسل أو حلقات هيدروكربونية، كما تحتوي على مجموعة محبة للماء (قطبية) أصغر. لليبيدات ثلاثة أدوار أساسية في الكيمياء الحيوية، وهي تخزين الطاقة، وإرسال الإشارات، وتكوين البنيات.

معظمُ الليبيدات أحماضٌ دهنية تتكوَّن من ذيل كربوني غير محب للماء مكوَّن من ١٢ إلى ٢٠ ذرة، بالإضافة إلى مجموعة رأس من حمض الكربوكسيل (COOH–). وحينما نأتي على ذكر مصطلحات مثل الزيوت أو الدهون المشبعة وغير المشبعة وأوميجا-٣ في خطط الأنظمة الغذائية، فإننا نتحدَّث عن بنية ذيول هذه الأحماض الدهنية. تحتوي الدهون المشبعة على ذيل هيدروكربوني ترتبط فيه ذراتُ الكربون بعضها ببعض في سلسلةٍ خطية وبروابط أحادية. وكل ذرة كربون في وسط السلسلة ترتبط أيضًا بطريقة تساهمية بذرتَي هيدروجين. أما في حالة الدهون غير المشبعة، فترتبط ذرتان أو أكثر من الكربون في السلسلة معًا بروابطَ مزدوجةٍ، ما يسبِّب إحداثَ ثنية في السلسلة. وعندئذٍ يمكن أن ترتبط كل ذرة كربون في الرابطة المزدوجة بذرة هيدروجين واحدة فقط. ومن ثَم

لا تتشبَّع هذه السلاسل بذرات الهيدروجين، ما يفضي إلى مصطلح الدهون غير المشبعة. وتشير مصطلحات مثل أوميجا-٣ إلى موضع ظهور الرابطة المزدوجة في السلسلة. وفي هذه الحالة، توجد الرابطة المزدوجة قبل نهاية السلسلة بثلاثة جزيئات كربون.

الجليسرول الثلاثي هو ليبيد مكوَّن من ثلاث سلاسل أحماض دهنية مرتبطة بجزيء جليسرول. والدور الأساسي لهذا الليبيد هو تخزينُ الطاقة. فبمجرد أن يتكوَّن، فإنه يُخزَّن في خلايا دهنية متخصصة تُعرف باسم الخلايا الشحمية. وهناك نوعٌ شائع آخر من الليبيدات وهو الجليسيروفوسفوليبيد. يتكوَّن هذا النوع من اثنين من الأحماض الدهنية المرتبطين أيضًا بجزيء جليسرول، ولكن — بدلًا من السلسلة الثالثة — ترتبط أيضًا مجموعةُ رأس كبيرة من الفوسفات (PO_4^-) بجزيء الجليسرول. وهذا يكوِّن جزيئًا ذا درجة عالية من «الألفة المزدوجة» — وهذا يعني أن أحد طرفيه غير محبٍّ للماء والطرَف الآخر محب للماء — وتفضي هذه الطبيعة المزدوجة لليبيد إلى شيء مثير للاهتمام. فعندما توضع هذه الليبيدات في بيئة مائية، فإن التأثير غيرَ المحب للماء يدفع الذيول إلى التجمع معًا تاركًا مجموعات الرأس المحبة للماء كي تتفاعل مع الماء. وينتج عن ذلك تكوُّن بنيات تشبه اللوحة تسمى الطبقات الثنائية (انظر الشكل ٢-١). لكن النواة غير المحبة للماء للطبقات الثنائية هذه تجعل البنية بأكملها غيرَ منفِّذة للماء. ويمكن أن تلتف الطبقة الثنائية بحيث تأخذ شكل حقيبة، ومن ثَم تكوِّن مثل هذه الطبقة الثنائية حاجزًا فعالًا حول الخلية بحيث تعزل الكيمياء المعقَّدة بالداخل عن البيئة الفوضوية بالخارج. بالطبع، من المفترض أن تتفاعل الخليةُ مع البيئة المحيطة بها؛ فهي بحاجةٍ إلى استشعارِ ما يجري من حولها واستخلاص العناصر الغذائية من البيئة والتفاعل مع الخلايا الأخرى. وتجري هذه التفاعلات من خلال البروتينات المدمجة داخل الطبقة الثنائية لليبيد، حيث إنها تكون بمنزلة مسامَّ وبواباتٍ ومستقبِلات توجِّه تدفُّق المواد والمعلومات عبْر غشاء الخلية. وتتعاون الليبيدات والبروتينات الغشائية هذه لتكوين سائل ثنائي الأبعاد تتحرك فيه المكوِّنات بحرية إلى حد كبير داخل مستوى الغشاء.

الكائنات بدائيات النوى ذات الخلايا البسيطة مثل البكتيريا تستخدم الأغشية الليبيدية (بالإضافة إلى جدران الخلايا المعقَّدة المحتوية على الببتيدوجليكان) باعتبارها جزءًا من حدود الخلية. أما الكائنات الحقيقيات النوى ذات الخلايا الأكثر تعقيدًا مثل النباتات والفطريات والحيوانات، فتقسم خلاياها بالأغشية الليبيدية بحيث تشكِّل العضيات. وكل عضية لها دورٌ وكيمياء حيوية مميزان، مثل نواة الخلية حيث يوجد ويتضاعف



شكل ٢-١: تمثيل كرتوني لطبقة ليبيد ثنائية.

الدي إن إيه؛ والميتوكوندريا وهي محطات الطاقة للخلايا؛ وفي حالة النباتات، البلاستيدات الخضراء حيث تحدُث عملية البناء الضوئي.

يبدو كلُّ هذا بسيطًا للغاية، ولكن في الواقع تتكوَّن أغشية الخلايا من مجموعة كبيرة ومتنوِّعة من الليبيدات المختلفة التي تنقل سِمات كيميائية وفيزيائية إلى الأغشية. على سبيل المثال، تؤثِّر الثنيات الناتجة عن السلاسل غير المشبعة في سيولة الغشاء الليبيدي. وفي نفس الوقت، يمكن أيضًا أن تتفاوت مجموعاتُ الرأس في الحجم والشحنة والبنية، والتي يمكنها جميعًا تغييرُ وظيفة البروتينات داخل الغشاء أو تكوين تجمُّعات مميزة من الأغشية لها خصائصها الخاصة بها.

المكوِّن الليبيدي الأساسي الآخر في أغشية خلايا حقيقيات النوى هو الستيرولات، والذي أشهر أنواعه هو الكوليسترول. تتكوَّن الستيرولات من جزيئات رباعية الحلقات ذات سلسلة قصيرة في أحد الطرفين ومجموعة رأس قطبية بالغة الصغر (عادة ما تكون OH−) في الطرف الآخر. ونتيجة لذلك، فإن الستيرولات غير محبة للماء للغاية، ومن ثَم تنقسم في منطقة السلسلة في الغشاء. إن وجودها يقوي الغشاء. وقد تكون مفيدةً أيضًا في تكوين تجمُّعات بحجم نانومتري — تُعرف باسم الطوافات الليبيدية — والتي تتجمَّع فيها بروتينات معينة بحيث تكوِّن مناطقَ وظيفيةً مميزة على سطح الخلايا. وكانت طبيعة هذه الطوافات محلَّ جدال كبير. إذ يشكك البعض في وجودها من الأساس، ومعهم حججٌ معقولة في ذلك. لكن إذا كانت الطوافات موجودة، فربما تكون وظيفتها

توظيفَ وتركيز البروتينات المتضمنة في تمرير الإشارات الكيميائية عبْر الخلية، وتُعرف هذه العملية باسم نقل الإشارات. حري بنا أيضًا التنويهُ بأن الطوافات قد تكون نقاطَ غزو تستغلها الفيروسات. على سبيل المثال، لاحظ علماء الفيروسات أن إزالةَ الكوليسترول من الغشاء في بعض الحالات (ومن ثَم إزالة الطوافات) تُعجز فيروس نقص المناعة البشري عن إصابة الخلية. وعلى الرغم من سمعة الكوليسترول السيئة في وسائل الإعلام، فإنه مكوِّن حيوي لأغشية الخلايا، كما أنه سلف للعديد من جزيئات الإشارات مثل فيتامين D وهرمونَي التستوستيرون والإستراديول. ومن ثَم إزالته لن تكون طريقةً مجدية في الحماية من أنواع العدوى الفيروسية.

الكربوهيدرات

الكربوهيدرات جزيئاتٌ حيوية مألوفة، ولكنها لا تزال بحاجة إلى بعض التعريف. وعلى الرغم من التجاهل المتكرِّر لها مقارنةً بالبروتينات والأحماض النووية المثيرة للاهتمام أكثر فيما يبدو، فإنها أساسيةٌ في الكيمياء الحيوية. إنها توفِّر الوقود الذي يمد الخلايا بالطاقة، وتشكِّل السقالة التي تُبنى حولها العديد من البنيات، وكثيرًا ما تزين البروتينات بحيث تعدِّل سلوكها أو تضيف وظائفَ إليها.

يمكن تقسيم الكربوهيدرات الحيوية إلى ثلاث فئات أساسية. الفئة الأولى هي السكريات البسيطة المتضمَّنة في عملية تحويل الطاقة ويندرج ضمنها السكريات الأحادية — التي يُطلق عليها السكاريد الأحادية — مثل الجلوكوز والفركتوز والجلاكتوز. عندما يرتبط نوعان من هذه السكريات أحدهما بالآخر، فإنهما يكوِّنان الفئةَ الثانية من الكربوهيدرات التي تسمَّى السكاريد الثنائية، مثل السكروز (الذي يتكوَّن بالربط بين الجلوكوز والفركتوز) أو اللاكتوز (الذي يتكوَّن بربط الجلوكوز بالجلاكتوز). السكريات البسيطة سريعةٌ وسهلة الأيض على الخلايا؛ حيث إنها تطلق الطاقة الكيميائية المحتجَزة بداخلها. لكن هذه السكريات يصعُب تخزينها، ومن ثَم تربط أجسامنا السكريات بعضها مع بعض لتشكِّل عديدات سكاريد أكبر (وهي الفئة الثالثة من الكربوهيدرات)، والتي تسمَّى الجلايكوجين، أما النشا فيؤدي في النباتات دورًا مماثلًا. تتضمَّن أنواع الكربوهيدرات الأخرى الكايتين الذي يتكوَّن من أسيتيل الجلوكوزامين الذي تتكوَّن منه جدران الخلايا في الفطريات والهياكل الخارجية للحشرات. كذلك تظهر كبريتات الكيراتان في القرنيات والغضاريف والعظام.

يوجد نوع من عديد السكاريد يستحق الذكر على وجه الخصوص، حيث إنه أوفر بوليمر على الكوكب ومسئول عن أكبر البنيات الحيوية في العالم. يتكوَّن السيليولوز من سلاسلَ طويلة خطية من الوحدات الفرعية للجلوكوز، والتي يرتبط كلٌّ منها بالسلاسل المجاورة لها ارتباطًا متقاطعًا عبْر روابط هيدروجين. إن السيليولوز هو الذي تتكوَّن منه الجدران التي تحيط بالخلايا النباتية ما يعطيها خاصية الصلابة. وهذا ما يجعل النباتات موادَّ مفيدة يمكن استخدامها في إنشاء كل شيء بدايةً من الأثاث وحتى الملابس. إن الخشب (بالإضافة إلى نوعٍ آخر من الكربوهيدرات المعقَّدة يسمَّى اللجنين) والقنَّب والقطن بوجه أساسي عبارة عن سيليولوز. وفي الحقيقة، تحدُث إحدى عمليات الكيمياء الحيوية الصغيرة في كل مرة تكوي فيها قميصًا من القطن. فاجتماع الحرارة مع الرطوبة يفكِّك روابط الهيدروجين بسرعة. وعندما تُدخل هذان الأمران بقليل من الضغط، تُجبِر كل جزيئات السيليولوز على أن تتراصَّ موازية بعضها بعضًا، ما يؤدي إلى فردِ الملابس. وبعدما يبرد القميص، تتصلح روابط الهيدروجين وتثبت على الحالة المضغوطة الجديدة.

لا يهتم علم الأحياء كثيرًا بإبقاء هذه الفئات المتنوعة من الجزيئات الحيوية منفصلة بعضها عن بعض. بل كثيرًا ما يربطها معًا لتكوين مركَّبات مقترنة معقَّدة عن طريق مزج المجموعات الكيميائية. رأينا بالفعل إلى أي مدًى سكريات الريبوز جزء أصيل في بنية الدي إن إيه. وتضاف الكربوهيدرات أيضًا إلى البروتينات والليبيدات مما يؤدي إلى تكوين البروتينات السكرية والليبيدات السكرية. ومن الأمثلة الرئيسية على ذلك نظام فصائل الدم ABO. فخلايا الدم الحمراء تغطيها مجموعة متنوعة من الليبيدات السكرية والبروتينات السكرية. إن أصحاب فصيلة الدم O لديهم بروتينات سكرية مشتملة على جزيئين من الجلاكتوز وواحد من الفيوكوز وواحد من إن-أسيتيل الجلوكوزامين؛ وأصحاب فصيلة الدم B لديهم جزيء جلاكتوز إضافي، وأصحاب فصيلة الدم A لديهم جزيء إن-أسيتيل جلوكوزامين إضافي. وفي الوقت نفسه، تُنتِج أخلاطًا أخرى من الكربوهيدرات والأحماض الأمينية جدران خلايا بكتيرية؛ فالببتيدوجليكانات عبارة عن عديدات سكاريد مرتبطة بامتدادات قصيرة من الأحماض الأمينية. ومن المثير للاهتمام أن البروتين البكتيري الذي يخلُق هذا الارتباط المتقاطع يُعَد هدفًا للمضاد الحيوي البنسيلين؛ حيث إنه يمنع تكوُّن جدران الخلايا البكتيرية.

عملة الطاقة ومكوكات الإلكترونات

العديد من العمليات الكيميائية الحيوية غيرُ مواتية من حيث الطاقة؛ بمعنى أنها المكافئ الأيضي لدفع حجرٍ إلى أعلى تل، ومن ثَم فهي تتطلَّب دفعات قوية وسريعة من أجل تحريكها. وقدْر كبير من الطاقة اللازمة لتشغيل هذه العمليات يأتي في نهاية الأمر من الشمس. حينها، تحبس النباتات الطاقة عبر عملية البناء الضوئي قبل تخزينها في صورة إلكترونات عالية الطاقة داخل الروابط بين ذرات الكربون في الكربوهيدرات والدهون. لكن إطلاق الطاقة المحبوسة في هذه المخازن عمليةٌ بطيئة. يمكنك التفكير في الكربوهيدرات والدهون باعتبارها طاقةً «مودعة» في حساب ادخار، حيث ينبغي بذلُ مجهود خاص للوصول إليها. تحتاج الخلايا إلى مصدر طاقة «سائل» أكثر لتشغيل المحرِّكات والإنزيمات والمضخَّات الخلوية والمكوِّنات الأخرى للآلة الخلوية التي لا تتوقَّف أبدًا. في واقع الأمر، إنها بحاجةٍ إلى عملة طاقة عالمية وسهلة التداول. وفي عالَم الكائنات الحية، فإن الجزيء الأساسي الذي يلبي هذا الدور هو الأدينوسين الثلاثي الفوسفات.

يتكوَّن الأدينوسين الثلاثي الفوسفات من الأدينين (الذي عرفنا من قبلُ أنه واحد من القواعد الأربع في الدي إن إيه) المرتبط بسكر ريبوز وصفٍّ مكون من ثلاث مجموعات فوسفات. مجموعة الفوسفات الأخيرة معرَّضة للمرور بعملية تحلُّل مائي محفَّزة بالإنزيمات (بمعنى أن الإنزيمات يمكن أن تزيلها) لإنتاج مجموعة فوسفات حرة وماء وأدينوسين ثنائي الفوسفات. وفي هذه العملية، تنطلق الطاقة، ومن ثَم يمكن استخدامها لتشغيل آليات الخلية. وفي صميم عملية الأيض، توجد مسارات ودورات مخصَّصة لاقتحام مخازن الطاقة الممتلئة بالكربوهيدرات والدهون واستخدامها لإعادة شحن مخزون الأدينوسين الثلاثي الفوسفات (وهو أمرٌ سنتناوله بمزيد من التفصيل في الفصل الخامس). المحصِّلة هي أن كل جزيء أدينوسين ثلاثي الفوسفات قد يخضع لعملية إعادة التدوير هذه حوالي من ألفين إلى ثلاثة آلاف مرة في اليوم.

الأدينوسين الثلاثي الفوسفات له مجموعةٌ من الجزيئات الشقيقة له والتي لها دورٌ آخر حيوي في الكيمياء الحيوية. الأدينوسين الثلاثي الفوسفات والجوانين الثلاثي الفوسفات والسايتوسين الثلاثي الفوسفات واليوراسيل الثلاثي الفوسفات عبارة عن نيوكليوتيدات تُستخدم لبناء الآر إن إيه. وعلى الجانب الآخر، يُستخدم الأدينوسين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين والجوانين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين

ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المؤكسد

(أ)

الكوليسترول

(ب)

فوسفوليبيد غير مشبع

(ج)

الأدينوسين الثلاثي الفوسفات

(د)

السكروز

(هـ)

شكل ٢-٢: (أ) ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين في صورته المؤكسدة؛ (ب) الكوليسترول؛ (ج) فوسفوليبيد غير مشبع شائعة الوجود؛ (د) الأدينوسين الثلاثي الفوسفات؛ (هـ) السكروز الثنائي السكاريد المكوَّن من حلقات جلوكوز وفركتوز.

والسايتوسين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين والثايمين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين لبناء الدي إن إيه (انظر الشكل ٢-٢).

يقال في بعض الأحيان إن الكيمياء ما هي إلا حركة الإلكترونات لأن الإلكترونات هي وسيط الروابط الكيميائية؛ أي إنه عندما تتحرَّك الإلكترونات، تتكوَّن الروابط

وتتفكَّك. لذا فإن بناء شيء معقَّد وديناميكي مثل كيمياء الحياة يتطلَّب الكثير من تنقُّل الإلكترونات. هناك مجموعة أخرى من الجزيئات القائمة على الأدينين مسئولة عن معظم عمليات نقل الإلكترونات من موقع تفاعل إلى آخر، ومن ثَم فإن لها دورًا محوريًّا في العمليات الكيميائية الحيوية. ومكوكات الإلكترونات هذه هي ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين، وثنائي نيوكليوتيد الفلافين والأدينين، وفوسفات ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين. توجد هذه المكوكات جميعها في صور مؤكسدة (ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المؤكسد، وثنائي نيوكليوتيد الفلافين والأدينين المؤكسد، وفوسفات ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المؤكسد) والتي هي مستقبِلات للإلكترونات، وصور مختزلة (ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المختزل وثنائي نيوكليوتيد الفلافين والأدينين المختزل، وفوسفات ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المختزل) والقادرة على منح الإلكترونات، مثل $NAD + H^+ + 2e^- \rightleftharpoons NADH$. ومثلما هو الحال مع الأدينوسين الثلاثي الفوسفات، تعلَق تلك الجزيئات الثلاثة في عملية إعادة تدوير وهي تنقل الإلكترونات من مكانٍ إلى آخر، ومن ثَم لا تفتأ تخضع لعمليات تحويل بين صورها المؤكسدة والمختزلة.

الفصل الثالث

البروتينات: آلات الطبيعة النانوية

البروتينات هي الشكل المهيمن في الآلة الخلوية. فالبروتينات تنظِّم كلَّ العمليات الحيوية أو تنفِّذها أو تحكمها. فتتحكَّم البروتينات في التدفُّق الأيضي، وتوفِّر الدعم الميكانيكي، وتشكِّل المسارات بين الخلايا التي تنقل المواد من خلالها، وتدير الجينومات، وكذلك تعمل بمنزلة البوابات عبر الأغشية. هذا العدد الهائل من العمليات اللازمة للحفاظ على عمل الخلايا تُدار في الكائن الحي أو الخلية عبر مجموعة كبيرة من البروتينات التي تُعرف معًا باسم البروتيوم. ويتفاوت حجم البروتيوم حسب تعقيد الكائن الحي: فقد تحتاج الخلية الواحدة في الثدييات ما يزيد على ١٥ ألف بروتين كي تعمل؛ ويتطلب الإنسان ما يربو على ٩٠ ألف بروتين. لكن بإمكان البكتيريا أن تتدبَّر أمرها بثلاثة آلاف بروتين فقط، بينما الفيروسات قد لا تحتاج إلى أكثر من بضع عشرات من البروتينات.

كما رأينا، البروتينات لها بنياتٌ هرمية تبدأ بتسلسل أولي من الأحماض الأمينية المرتبطة بعضها ببعض في سلسلة عديد ببتيد. وبعد ذلك تُطوى إلى بنيات ثانوية تتكوَّن من لوالب ألفا وأشرطة بيتا مرتبطة بعضها ببعض لتشكيل صفائح بيتا، بالإضافة إلى لفاتٍ أقل تحديدًا تربط البنيتين الأخريين إحداهما بالأخرى. وتتجمَّع العناصر البنيوية الثانوية معًا لتكوين شكل كلي ثلاثي الأبعاد يُعرف باسم البنية الثلاثية. أما ترتيب سلاسل البروتينات المتعدِّدة لتكوين مركَّبات البروتين فهو البنية الرباعية. البنيات المختلفة التي تتخذها البروتينات جميلة ومتعدِّدة ومتنوِّعة. ومنذ عام ١٩٥٨ عندما اكتُشفت بنية الميوجلوبين، زاد بشدة عدد البروتينات التي عُرفت بنياتها حتى وصل إلى أكثر من مئات الآلاف. ويمكن الاطلاع عليها جميعًا عبر أرشيفٍ يقع في نطاق الملكية العامة، وهو بنك بيانات البروتينات (والموجود على موقع rcsb.org).

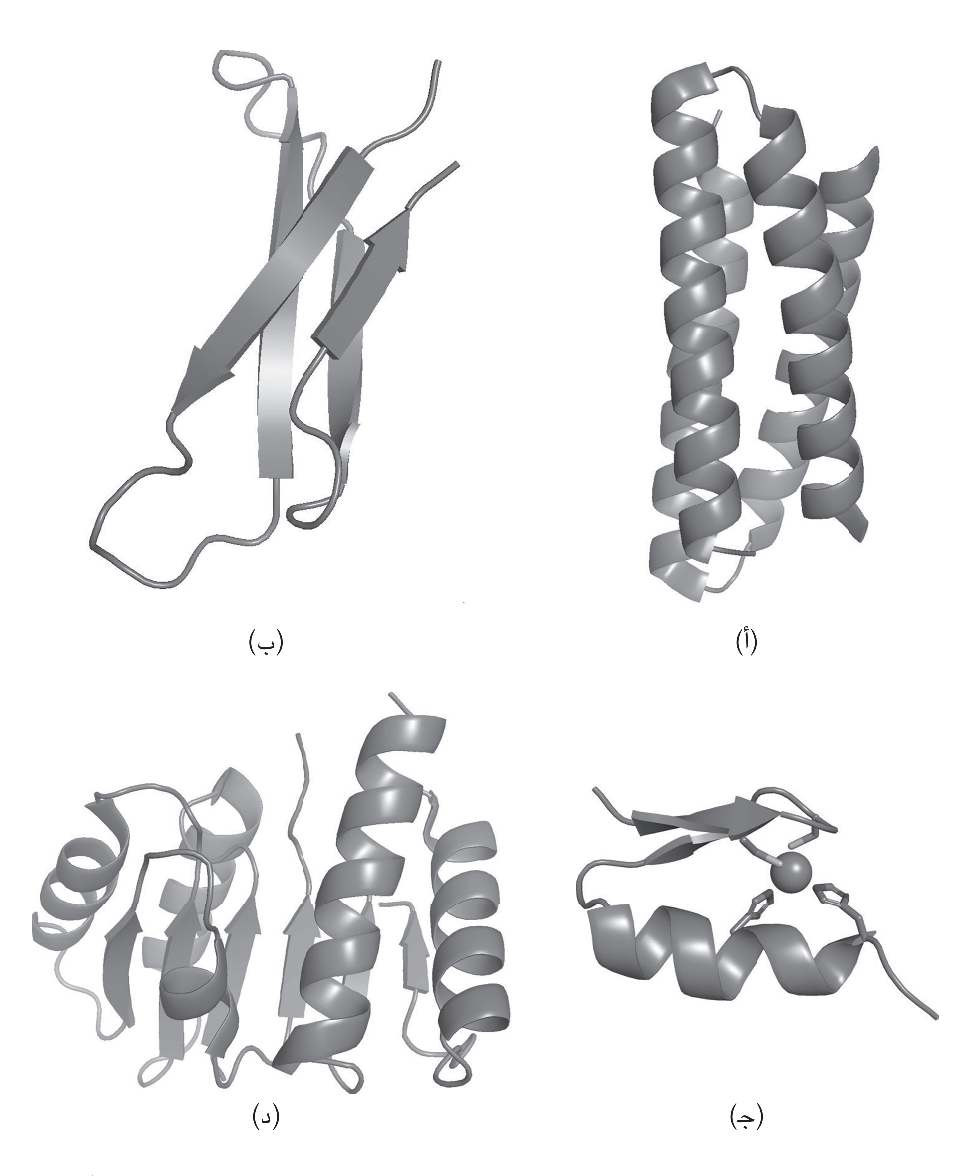
الأنماط البنيوية

إذا بحثت في بنك بيانات البروتينات الفسيح (وأنا أحثُّك بشدة على ذلك؛ فهو مكان رائع في شبكة الإنترنت)، فقد تلاحظ ظهور أنماط في طيات البروتينات. يبدو أنه يوجد عدد محدود من الطرق التي تترابط بها البنيات الثانوية، والتي صُنِّفت إلى عدد صغير من الأنماط أو الموتيفات (انظر الأمثلة في الشكل ٣-١). ومن أشهر الأنماط دبوس الشعر بيتا، الذي يتكوَّن من أشرطة بيتا متضادة التوازي تترابط عبر لفة تتكوَّن من بضعة أحماض أمينية. وبالمثل، يمكن أن يترابط لولبان عبر لفة في نمط لولب-لفة-لولب. الأنماط الأخرى أعقد، ومن أمثلتها نمط المتشابكة المكوَّن من أربعة أشرطة بيتا، أو أخلاط من العناصر البنيوية الثانوية كما في نمط إصبع الزنك. وتلك من أشيع الطيات في البروتينات التي تتفاعل مع الدي إن إيه أو الآر إن إيه، وهي تربط شريطي بيتا مع لولب ألفا، بحيث تربط اثنين من بقايا الهيستيدين والسيستين بأيون زنك.

يزيد تعقيد بنيات البروتينات أكثر مع تجمُّع الأنماط معًا حتى تُكوِّن نسقًا أكبر. لكن حتى في هذا المستوى، تظهر الأنماط البنيوية مع الحفاظ على تشكيلات معينة واستخدامها بمنزلة سقالات تعلَّق عليها التفاصيل الخاصة بالبروتينات.

على سبيل المثال، كثيرًا ما يُرى نمط لولب-لفة-لولب في الحزمة التي تسمَّى «حزمة اللوالب الأربعة». وهذا النسق الشائع والبسيط كثيرًا ما يظهر. إنه يظهر في بعض الأحيان في صورة حزم منفصلة مثلما هو الحال في هرمون النمو البشري. على نحوٍ بديل، تتحد أربع وعشرون حزمة فردية لتكوِّن الفيريتين، وهو بنية كروية ضخمة تنقل الحديد. أو ربما يكون مجرد عنصر واحد في بروتين أكبر بكثير مثلما هو الحال في بروتين تثبيط اللاكتوز، وهو بروتين ربط الدي إن إيه، يتكوَّن من عدة نطاقات طي مختلفة.

على الجانب الآخر، تلتصق العديد من أنماط المتشابكة مع أنماط دبابيس الشَّعر بيتا وتكوِّن صفائح ممتدة تلتف في النهاية على نفسها بحيث تكوِّن براميل بيتا. تشيع هذه الأنماط على وجه الخصوص في الأغشية البكتيرية حيث تعمل بمنزلة مسامَّ (تُعرف فئة البروتينات هذه باسم البورينات) والتي تنتشر من خلالها الجزيئات. ولقد تطوَّرت البورينات لتصبح خاصةً بجزيء معيَّن مما يتيح للخلايا أن تتحكَّم بعناية في تدفُّق المواد الكيميائية عبر أغشيتها.



شكل ٣-١: الأنماط البنيوية الشائعة في البروتينات: (أ) نمطا لولب–لفة–لولب يشكلان حزمةً رباعية اللوالب؛ (ب) أربعة أشرطة بيتا تكوِّن نمطًا متشابكًا؛ (جـ) إصبع زنك ذو أيون زنك مثبت بسلاسل جانبية من الهيستيدين والسيستين؛ (د) طية روسمان الأكثر تعقيدًا.

ثم توجد نُسق أعقدُ مثل طية روسمان التي تتكوَّن من مجموعتين من الأزواج اللولبية تحيطان بصحيفة بيتا ذات ستة أشرطة. وكثيرًا ما تُرى طية روسمان في بروتينات ربط النيوكليوتيدات والبروتينات النازعة الهيدروجين.

العوامل المرافقة وتعديلات ما بعد الترجمة

ينتج العشرون حمضًا أمينيًّا التي تشكِّل أساس البروتينات المجموعةَ الهائلة من بنيات البروتينات، ولكنها لا توفِّر التنوُّع الكيميائي الكافي لتنفيذ كل العمليات الكيميائية الحيوية للخلية. ومن ثَم، كثيرًا ما تحتاج البروتينات إلى شيء إضافي والذي يكون في شكل مجموعات كيميائية إضافية. تضاف هذه المجموعات في بعض الأحيان بعد فترة وجيزة من تصنيع البروتينات (عملية الترجمة)، وتُعرف هذه التغييرات المهمة التي تطرأ على البروتينات باسم تعديلاتِ ما بعد الترجمة.

الجلوزة من أشهر أنواع تلك التعديلات. يجري تعديل حوالي نصف كل أنواع البروتينات بإضافة السكر إلى سطحها. وفي بعض الحالات، قد تضيف هذه التعديلات ٥٠ بالمائة أخرى إلى كتلة البروتين المعني. تتنوَّع أدوار الجلوزة؛ إذ تتراوح بين تنظيم ارتباط البروتينات بالمستقبِلات وحتى زيادة الاستقرار الحراري والمدى العمري للبروتين. وبالمثل، تنظَّم العديد من البروتينات عن طريق إضافة مجموعات الفوسفات أو إزالتها؛ الأمر الذي يفسِّر سببَ ظهور الفوسفور في التحليل العنصري الأولي للبروتينات الذي أجراه مولدر.

تُعرَف الإضافات إلى البروتينات الضرورية لوظيفتها باسم العوامل المرافقة. ومن أشيع العوامل المرافقة أيونات المعادن. ومن أشهر الأمثلة على ذلك ما يحدُث في الهيموجلوبين، حيث يؤدي الحديد دورًا بالغَ الأهمية باعتباره حاملًا للأكسجين (تستخدم بعضُ اللافقاريات النحاس بدلًا من الحديد، ما يعطي دمَها لونًا أزرق). الزنك مطلوب في العديد من الإنزيمات التي تتفاعل مع الأحماض النووية (كما في بروتينات إصبع الزنك المذكورة آنفًا)، والمغنيسيوم مطلوب في الإنزيمات الداخلة في عملية التخمُّر. ولهذا السبب، يجب أن نُدخِل إلى أنظمتنا الغذائية كمياتٍ صغيرة من هذه المعادن، بالإضافة إلى المنجنيز والنحاس والبوتاسيوم (على الرغم من أن هذا المعدن مطلوب بكمياتٍ أكبر بكثير نظرًا لدوره في نقل الإشارات العصبية) والنيكل والسيلينيوم والموليبدينوم.

هناك عواملُ مرافقة أخرى أعقد، غالبًا ما تُشتق من الفيتامينات، تُعرف باسم مرافقات الإنزيم. يمكن أن ترتبط هذه العوامل بصورةٍ ضعيفة بأحد البروتينات مثل

(أ)

(ب)

شكل ٣-٢: مثالان على البورفرينات: (أ) مجموعة هيم موجودة في الهيموجلوبين والميوجلوبين وإنزيم الكتالاز؛ و(ب) الكلوروفيل A.

ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المختزل، أو ترتبط به بطريقة تساهمية (مثل مرافق الإنزيم A المشتق من فيتامين B الذي يظهر في عدد من مسارات الأيض التي تتراوح من تخليق الأحماض الدهنية وحتى إنتاج الطاقة). يتكرَّر ظهور ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المختزل عبر عمليات الأيض؛ ولذا سنقابله مرة أخرى لاحقًا. ومن فئات مرافقات الإنزيم الأخرى التي يتكرَّر ظهورها البورفرينات، التي عادةً ما تُستخدم في تثبيت أيونات المعادن في مكانها (انظر الشكل ٣-٢). تُخلَّق مرافقات الإنزيم هذه من الأحماض الأمينية وغيرها من الجزيئات البسيطة، وتكوِّن هيم الهيموجلوبين والميوجلوبين وإنزيم الكتالاز، وكذلك جزيء صبغة البناء الضوئي، الكلوروفيل.

وظيفة البروتينات

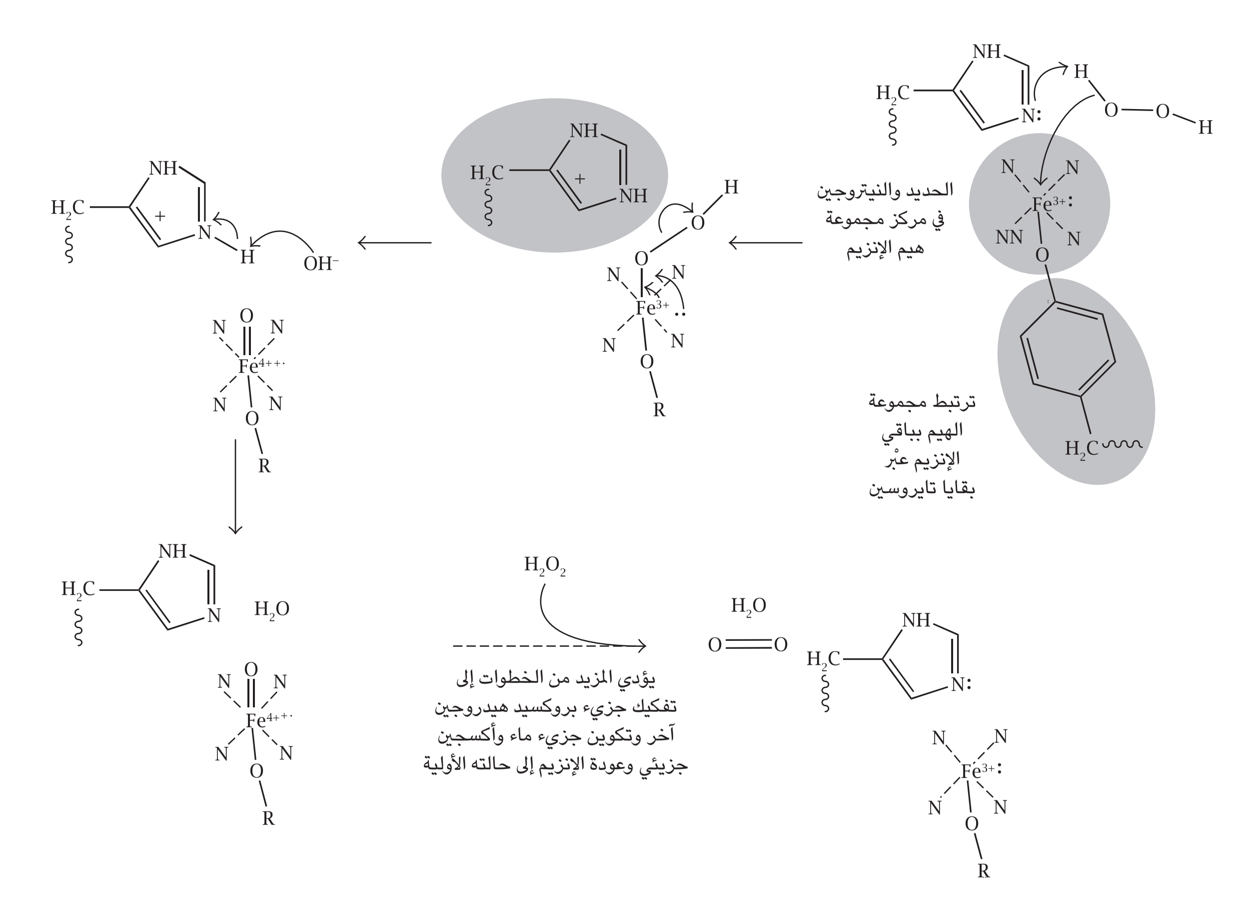
انطلاقًا من الدور المركزي الذي تؤديه البروتينات في الكيمياء الحيوية، سنتناول بالتفصيل كيف تتفاعل البروتينات بعضها مع بعض ومع المواد الكيميائية الحيوية الأخرى. لكن لننظر أولًا إلى العلاقة بين بنية البروتينات ووظيفتها. وتوضيحًا لهذه النقطة، لننظر إلى بروتين الكتالاز. إنه مثال جيد لأسبابٍ ليس أقلها أنه سيسهُل رؤية الإنزيم أثناء عمله. فإذا أُضيفت ملعقة صغيرة من الخميرة الجافة إلى كوب من بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، فستلاحظ على الفور تكوُّن فقاعات. هذه الفقاعات عبارة عن أكسجين، وهي نتيجة تحفيز الكتالاز الموجود في الخميرة لتحلل بيروكسيد الهيدروجين إلى ماء وأكسجين. يوجد إنزيم الكتالاز في كل خلية لدى جميع الكائنات الحية، ووظيفته حماية الخلية من بيروكسيد الهيدروجين الضار والكاوي الذي ينشأ باعتباره منتجًا ثانويًّا للعديد من التفاعلات الكيميائية الحيوية الأخرى.

قبل أن نتناول الكتالاز بمزيد من التفصيل، جدير بنا أن نقضي بعض الوقت في دراسة الإنزيمات بوجه عام. فمثل كل المحفزات، تسرِّع الإنزيمات من التفاعلات غير أنها لا تفضي إلى زيادة نواتجها. تخيَّل أن خزانًا مائيًّا كوَّنه سدٌّ مرتفع على جانب جبل. يتدفَّق الماء عبر بوابة مفتوحة في السد ويشق طريقه لأسفل. وإذا فُتح المزيد من بوابات السد، فسيزيد معدَّل الماء الذي يغادر الخزان، لكن البوابات ليس لها تأثير في الحالة النهائية. في النهاية، سيصل كلُّ الماء إلى أرض الوادي، وفتح المزيد من البوابات فقط هو ما أتاح الوصول إلى الحالة النهائية هذه بسرعة أكبر بكثير. وبالمثل، الإنزيمات ليس لها تأثير في النتيجة النهائية الممكنة؛ فكل دورها يتمثَّل في تسريع العملية للوصول إلى تلك

النتيجة. لا نهدُف هنا إلى الاستهانة بقوة الإنزيمات؛ ففي بعض الأحيان تكون الزيادة في معدَّل التفاعل هائلة. على سبيل المثال، يُبدي إنزيم نازعة كربوكسيل ٥′-أحادي فوسفات الأوروتيدين كفاءات تحفيزية مذهلة، وذلك بأخذ تفاعلٍ يبلغ عمره النصفي ثمانية وسبعين مليون سنة في العادة، ويختزل تلك المدة إلى ثمانية عشر ملِّي ثانية فقط. (بوجه عام، تسمَّى الإنزيمات في الإنجليزية حسب التفاعل الذي تحفزه، ويتبع ذلك اللاحقة ase. على سبيل المثال، الإنزيم الذي يخلِّق الأدينوسين الثلاثي الفوسفات هو ATP synthase (سينثاز الأدينوسين الثلاثي الفوسفات)، في حين يسمَّى ذلك الذي ينتج بوليمرات الدي إن إيه DNA polymerase (بوليميراز الدي إن إيه).)

الكتالاز أيضًا مثالٌ رائع على الكفاءة التي تتحلَّى بها البروتينات. فإنزيم كتالاز واحد قادر على تفكيك ملايين الجزيئات من بيروكسيد الهيدروجين في كل ثانية. في الحقيقة، يُعتقد أن معدَّل التفاعل لا يتقيد إلا بالسرعة التي يمكن أن تترك بها الماء الإنزيم، ومن ثَم لا يمكن فعليًّا أن يعمل الكتالاز بسرعة أكبر. ومن ثَم يتطلَّب تحقيق هذا الإنجاز المهم بنيةً كبيرة ومعقَّدة تتكوَّن من أربع سلاسل عديد ببتيد متطابقة، تتكوَّن كلٌّ منها من أكثر من ٥٠٠ حمض أميني. تُطوى السلاسل إلى أربعة نطاقات منفصلة؛ برميل بيتا أساسي تحيط به ثلاث بنيات أخرى تتكوَّن من لوالب وحلقات أقل تنظيمًا. وبداخل برميل البيتا في كل سلسلة، تُوجد أربع مجموعات هيم. يزيد حجم هذه البنية الكبيرة بمقدار ٧ آلاف ضعف عن كل جزيء من جزيئات بيروكسيد الهيدروجين. لكنها كلها مطلوبة لتكوين قناة توجِّه بيروكسيد الهيدروجين إلى قلب الإنزيم؛ حيث يكون بانتظاره جيبٌ يتفق تمامًا مع شكل جزيئَي بيروكسيد الهيدروجين. وعلى حافة ذلك الجيب توجد سلسلة جانبية من الهيستيدين ومجموعة هيم مرتبطة ببقايا تايروسين. توجد كلٌّ من هذه المكوِّنات في الموقع الدقيق المطلوب للتعامل مع بيروكسيد الهيدروجين. وبذلك، فإن المسرح — أو «الموقع النشط» — مهيأ لرقصة جزيئية (انظر الشكل ٣-٣).

لا يمكن ببساطة انتزاع الأكسجين من بيروكسيد الهيدروجين، بل ينبغي تفكيك الجزيء وتثبيت الأجزاء المختلفة في موضعها لفترة وجيزة (فيما يُعرف باسم الفترة الانتقالية) قبل إعادة تجميعها في الأكسجين الجزيئي والماء. أولًا: للوصول إلى أحد جزيئات الأكسجين في بيروكسيد الهيدروجين، يزيل الإنزيم إحدى ذرتي الهيدروجين ويلتصق بها. يؤدي الهيستيدين هذا الدور؛ بمعنى أن النيتروجين في سلسلة الهيستيدين الجانبية له شحنة سالبة خفيفة، ومن ثَم يجذب بروتونًا موجب الشحنة (أيون الهيدروجين). وهذه



شكل ٣-٣: الآلية التحفيزية لإنزيم الكتالاز (تعبِّر الأسهم المنحنية عن حركة الإلكترونات).

العملية تجعل الأكسجين متاحًا لأن يقترن بمجموعة الهيم، والتي تخلِّف وراءها أيون هيدروكسيد ذا شحنة سالبة (OH^-). تجذب الشحنة السالبة هذه الهيدروجين مرةً أخرى من الهيستيدين، ما يكوِّن جزيء ماء. حينها يتبادل الماء المكوَّن حديثًا الأماكنَ مع جزيء بيروكسيد هيدروجين آخر. بعد ذلك تتكرَّر الخطوة الأولى بترْك بروتون لفترة وجيزة لبيروكسيد الهيدروجين من أجل الهيستيدين. لكن في هذه المرة، يرتبط الأكسجين المتاح مع الأكسجين الأول المقترن بمجموعة الهيم، ويكوِّنان معًا أكسجين جزيئيًّا آخرَ وأيون OH^- آخر. في النهاية، ينضم الهيدروجين في سلسلة الهيستيدين إلى أيون OH^- لإنتاج جزيء ماء آخر.

تعقيد عمل تفاعل الكتالاز ودقَّته مثال رائع على الصلة المهمة بين بنية البروتين ووظيفته. والتشبيه الذي يتكرَّر استخدامه لوصف هذه العلاقة هو نموذج القفل والمفتاح (الذي كان أول مَن اقترحه إميل فيشر عام ١٨٩٤)؛ حيث إن الإنزيم يمثل تجويفًا دقيقًا يتناسب تمامًا مع شكل جزيء ركيزة. إنه تشبيه رائع من عدة نواحٍ، ولكنه لا يراعي مرونةَ البروتينات، وهذا ما يفسِّر التفضيل العام لفرضية التلاؤم المستحث التي وضعها دانيل كوشلاند. في هذا النموذج، يكون الإنزيم وركيزته أقربَ إلى قفاز ويد، حيث ينثني كلٌّ منهما لاستيعاب التغييرات البنيوية في الآخر حتى يتناسبا معًا في شكل قفاز. هذه العلاقة المرنة بين البنية والوظيفة ستتضح أكثرَ مع التقدُّم في الكتاب.

حركية الإنزيمات

في الفصل الأول، رأينا كيف أن التصوير البلوري بالأشعة السينية أعطى علماء الكيمياء الحيوية أولَ لمحة عن البنيات الذرية للبروتينات. وقد أتاح لهم هذا أن يبدءوا في فهمِ كيف أن كل الأحماض الأمينية والعوامل المرافقة والربائط (وهي المواد التي ترتبط بالجزيئات الحيوية) يتجمَّع بعضها مع بعض لدفع العمليات الكيميائية الحيوية. لكن معظم الأساليب البنيوية — ولا سيما التصوير البلوري — تقدِّم صورًا ثابتة للبروتينات. ولفهم الطريقة التي تعمل بها الأنظمة الديناميكية مثل الإنزيمات، فهمًا كاملًا، ينبغي أيضًا دراستها عمليًّا. من الأمثلة الرئيسية على ذلك مجالُ حركية الإنزيمات.

منذ أواسط القرن التاسع عشر، أخذ يعكف علماء الكيمياء على دراسة معدلات التفاعل. وكثيرًا ما وجدوا تناسبًا بين سرعة التفاعل وتركيز المواد المتفاعلة. لكن يبدو أن

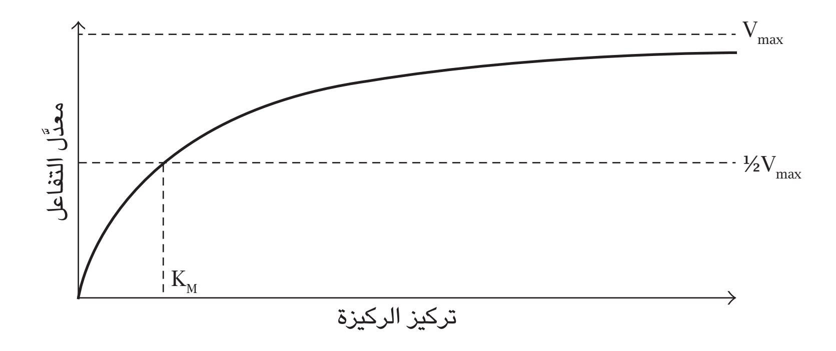
هذا لا ينطبق على الأنظمة الحيوية؛ فعلى سبيل المثال، اتضح أن معدلات تخمُّر الخميرة غير مرتبطة بكمية السكروز الموجودة. لكن في عام ١٩١٣، لاحظ ليونور ميكايليس وماد ليونورا منتين أن هذا ليس صحيحًا تمامًا. ففي تركيزات الركائز القليلة، كان معدل التفاعل يعتمد على كمية الركيزة الموجودة، ثم يستقر في التركيزات الأعلى.

لتوضيح هذه الظاهرة التي اختلفت عن سلوك التفاعلات الكيميائية الأخرى، اقترح ميكايليس ومنتين أن الإنزيم (E) والركيزة (S) يكوِّنان مركبًا وسيطًا يتألَّف من الإنزيم والركيزة (ES). عندئذٍ، ينقسم المركَّب الوسيط ويطلق المواد الناتجة (P) وإنزيمًا حرًّا:

$$E + S \rightleftharpoons ES \longrightarrow E + P$$

يشير هذا النموذج إلى أنه إذا كانت تركيزات الركيزة منخفضة، فستتقيد سرعةُ التفاعل بتكوُّن مركَّب الإنزيم والركيزة، لكن في التركيزات الأعلى، يتكوَّن مركَّب الإنزيم والركيزة بسرعة، وخطوة تقييد السرعة تعتمد على انقسام المركَّب. يسهُل تصوُّر هذا من خلال ما يُعرف باسم منحنى التشبُّع الخاص بميكايليس ومنتين؛ إذ يبين بوضوح كيف تعتمد سرعة التفاعل الخاصة بالإنزيم على تركيز الركيزة (انظر الشكل ٣-٤). وجب التنويه أيضًا إلى أن نموذج التفاعل الخاص بميكايليس ومنتين كثيرًا ما يكون تبسيطًا شديدًا. إذ إن للعديد من التفاعلات المحفزَّة بالإنزيمات عدة مركَّبات من الإنزيمات والركائز وكذلك المواد الناتجة من الإنزيمات. وهذا سيجعل التفاعل أعقدَ بكثير من الوصف البسيط المطروح بين هذه السطور. على الرغم من ذلك، فإن فهْم عمل ميكايليس ومنتين ونتائجه تعمل على توضيح عمليات الوصف الأكثر تعقيدًا لحركية الإنزيمات.

يقدِّم المنحنى عدةَ معاملات تصف سلوك الإنزيم. تتحقَّق أقصى سرعة للتفاعل (V_{max}) عندما تتشبَّع المواقع النشطة للإنزيم بالركيزة. ومن المُعامل V_{max}، يمكن اشتقاق مُعاملين آخرين. يعبِّر ثابت ميكايليس-منتين (K_m) عن تركيز الركيزة عند نصف سرعة التفاعل القصوى، كما أنه يوفِّر مقياسًا لميل الإنزيم إلى الارتباط بالركيزة؛ ومن ثَم فإن قيمة K_m المنخفضة تعني الوصول إلى السرعة القصوى في حالة التركيزات المنخفضة للركيزة، ومن ثَم يتمتَّع الإنزيم بدرجة ميل كبيرة للارتباط بتلك الركيزة، والعكس بالعكس. تتحدَّد السرعة التي يتحلَّل عندها مركَّب الإنزيم والركيزة إلى مادة ناتجة وإنزيم حر بثابت السرعة التحفيزية (k_{cat}). وتتحدَّد هذه القيمة بقسمة السرعة V_{max} على تركيز الإنزيم (أو بمعنًى أدقَّ الموقع النشط). ويوفِّر الثابت k_{cat} مقياسًا لمدى سرعة عمل الإنزيم



شكل ٣-٤: منحنى التشبُّع الخاص بميكايليس ومنتين، الذي يصوِّر العلاقة بين معدَّل تفاعل الإنزيم وتركيز الركيزة.

عبر تفاعله. آخر المُعاملات الذي له أهمية خاصة هو كفاءة الإنزيم، التي تتحدَّد بقسمة k_{cat} على K_m.

تتضح فائدة مُعاملات الحركية هذه بأفضلِ ما يكون بالمقارنة بين بضعة إنزيمات (انظر الجدول ٣-١).

قيمة الثابت K_m في إنزيم نازعة كربوكسيل ٥′-أحادي فوسفات الأوروتيدين منخفضةٌ للغاية، ما يدُل على تمتُّعه بدرجة ميل كبيرة للغاية للارتباط بركيزته. لكن يبقى مركَّب الإنزيم والركيزة الخاص به مدةً طويلة نسبيًّا، ما يقلل من كفاءته الكلية (حاصل قسمة k_{cat} على K_m). وفي الوقت نفسه، يتمتَّع الكتالاز بدرجة ميل أقل بكثير للارتباط بركيزته، ولكنه أسرع بكثير في إطلاق المواد الناتجة، ومن ثَم فإن كفاءته الكلية أفضلُ من تلك الخاصة بإنزيم نازعة كربوكسيل ٥′-أحادي فوسفات الأوروتيدين.

في الواقع، تصف مُعاملات حركية الإنزيم العلاقةَ بين الإنزيم وركيزة خاصة. يوضح إنزيم الكيموتربسين ذلك جيدًا. إنه إنزيم محلِّل للبروتين (أي، إنزيم يفكِّك البروتينات الأخرى) يفضِّل فكَّ الرابطة الببتيدية التي تسبق مباشرة سلسلةً جانبية لأحد الأحماض الأمينية العطرية الكبيرة (مثل التايروسين). ولكنه قادرٌ أيضًا على فكِّ الروابط التي بين الأحماض الأمينية الأخرى. تتجلَّى هذه الخصوصية في المُعاملات من خلال ثابت ميل ارتباط (K_m) أعلى بكثير وثابت سرعة (k_{cat}) أكبر، مما يجعل له كفاءةً أفضلَ بكثير لتحفيز التايروسين، الذي هو ركيزته المفضَّلة.

جدول ٣-١: المُعاملات الحركية لثلاثة إنزيمات وركائز متنوِّعة، موضَّحة بين الأقواس.

الإنزيم	K_m (M)	k_{cat} (s^{1-})	k_{cat}/K_m (S^{1-} M^{1-})
نازعة كربوكسيل ٥′-أحادي فوسفات الأوروتيدين	٧,٠ × ١٠^{−٧}	٣٩	٥,٦ × ١٠^٧
الكتالاز	١,١ × ١٠^{−٣}	١,٠ × ١٠^٦	٩,١ × ١٠^٨
الكيموتربسين (الفالين)	٨,٨ × ١٠^{−٢}	٠,١٧	١,٩
الكيموتربسين (التايروسين)	٦,٧ × ١٠^{−٤}	١٩٠	٢,٩ × ١٠^٥

توضِّح حالةُ إنزيم الكيموتربسين وتفضيله لركائزَ معينة كيف أن فهْم حركية تفاعلٍ ما يبرز جوانبَ من تفاعلات الإنزيم لن تكون واضحة على الفور من الدراسات البنيوية. وبالمثل، تثبت حركيةُ الإنزيمات فائدتَها عند محاولة التعرُّف على الطريقة التي تُنظَّم بها الإنزيمات والبروتينات الأخرى. وكثيرًا ما يتعدَّل نشاط الإنزيم عبر التفاعلات مع البروتينات الأخرى أو الجزيئات المثبطة الصغيرة أو عمليات التعديل. وكل هذه التفاعلات سيكون لها تأثير ملحوظ في حركية الإنزيمات. على سبيل المثال، قد يرتبط جزيء بالموقع النشط لإنزيمٍ ما ويبعُد ركيزته. يتجلَّى هذا التثبيط التنافسي — كما هو معروف — في صورة انخفاض درجة ميل ارتباط الإنزيم بالركيزة، ومن ثَم تزيد قيمة الثابت K_m، ولكن لا تتأثَّر قيمة V_{max}. يمكن أن ترتبط جزيئاتٌ مثبطة أخرى بأماكنَ أخرى وتسبِّب تغييرًا في شكل الإنزيم. لكن هذا التثبيط غير التنافسي لا يؤثِّر في قيمة الثابت K_m (حيث إنه لا يزال يمكن الوصول إلى الموقع النشط بنحو كامل)، ولكنه يعيق عملَ الإنزيم، ومن ثَم يقلِّل السرعة V_{max}.

مسألة طي البروتينات

في عام ١٩٥٨، وقبَيل حصول جون كندرو على جائزة نوبل في الكيمياء لعمله على بنية البروتين، أشار قائلًا: «يبدو أن الترتيب [الخاص بالبروتينات] يفتقر تمامًا إلى نوع الانتظام الذي يتوقَّعه المرء على نحوٍ حَدْسي، كما أنه معقَّد أكثر مما تنبَّأت به أيُّ نظرية عن بنية البروتينات.» لخَّصت هذه الجملة ما أصبح معروفًا فيما بعدُ باسم مسألة طي البروتينات؛ باختصار، يبدأ البروتين حياتَه في صورة سلسلة عديد ببتيد طويلة، فكيف

يُطوى إلى شكل ثلاثي الأبعاد معلوم الملامح كي يؤدي وظيفته؟ فهل يوجد كتيب وآلة تجميع خلوي تتعامل مع سلاسل عديد الببتيد الوليدة وتوجِّهها إلى الطية الصحيحة، أم إن البروتينات يمكنها أن تطوي نفسها؟

أُجيب عن السؤال الثاني في تجربةٍ ابتكرها كريستيان أنفينسن عام ١٩٦١. فقد أخذ إنزيمًا يسمَّى الريبونيوكلياز وقاس قدرتَه على قَطع الآر إن إيه. عندئذٍ، فكَّك البروتين مستخدِمًا اليوريا وعوامل الاختزال لكسر روابط ثاني الكبريتيد التي بين بقايا السيستين الثمانية في البروتين. وبذلك فقد البروتين شكله، ومن ثَم فقدَ قدْرتَه على هضم الآر إن إيه. بعد ذلك، أزال اليوريا وأتاح تصحيح ثاني الكبريتيد. وفي غضون دقائق، رصد الإنزيم وهو يستعيد قدْرتَه على هضم الآر إن إيه. قد تبدو هذه التجربة بسيطة — أو حتى تافهة — ولكنها بالغة الأهمية لأنها أوضحت أن البروتين يمكن أن يطوي نفسه من دون أي مساعدة خارجية. وهذا يعني أن كل المعلومات التي يحتاج إليها البروتين من أجل الطي موجودةٌ في تسلسله الأساسي. نتائج هذه التجربة مهمة، بمعنى أن بنية البروتين تتحدَّد حسب المعلومات المتضمَّنة داخل الجين. ومن ثَم، يمكن أن نتنبأ نظريًّا ببنية البروتين من تسلسل الدي إن إيه. أصبحت هذه الافتراضية معروفة باسم فرضية أنفينسن.

للأسف، فهْم أن البروتينات يمكن أن تطوي نفسها شيءٌ مختلِف تمامًا عن فهْم طريقة طي البروتينات، وهي مسألة معقَّدة إلى حدٍّ بعيد، وهو ما اتضح عبر تجربة فكرية ابتكرها سايراس ليفينثال عام ١٩٦٩. عُرفت التجربة باسم مفارقة ليفينثال فيما بعد، وهي كالتالي:

> تخيَّل أنه يوجد بروتين صغير يتكوَّن من ١٠١ حمض أميني فقط. لنفترض الآن أن كل حمض أميني يمكن أن يتخذ ثلاثة اتجاهات فقط بالنسبة إلى الحمض الأميني المجاور له. في هذه الحالة، سيتمكَّن البروتين الخاص بنا من اتخاذ $٣^{١٠٠}$ أو ٥×١٠^{٤٧} من الأشكال. وإن كان هناك بروتين بإمكانه أن يبحث عبر كل هذه الأشكال بسرعة كبيرة للغاية بمعدَّل بحثٍ قدْرُه شكل واحد كل ١٠٠ فيمتو ثانية (وهذا غير ممكن)، فسيستغرق $١٠^{٢٧}$ سنة كي يتحقَّق من كل الأشكال الممكنة التي يمكن أن يتخذها. بالنظر إلى أن هذا النطاق الزمني أطولُ بكثير من عمر الكون بقيمٍ أسيَّة كبيرة وإلى حقيقة أن معظم البروتينات في الواقع يمكن أن تُطوى في عدد من المِلِّي ثواني (بروتين الريبونيوكلياز الذي

عمل معه أنفينسن بطيءٌ جدًّا في الطي)، فلا بد أن هناك طريقة تُوجَّه بها البروتينات تجاه مسارات طي فعَّالة. وإذا فهمنا ذلك، فربما نعثر على الضالة المنشودة للكيمياء الحيوية البنيوية؛ وهي القدرة على التنبؤ بالبنية الثلاثية الأبعاد للبروتين من تسلسل الدي إن إيه للجين الذي يشفِّره.

بُذلت جهودٌ تجريبية كبيرة (بما فيها تجاربُ أجراها صاحب الكتاب) في محاولات لرسم معالم مسارات طي البروتينات. فقد عدَّل العلماء الأحماض الأمينية، وأنشئوا بروتينات اصطناعية، وتلاعبوا ببيئات الطي، وغير ذلك الكثير. ثم استخدموا مجموعةً هائلة من التقنيات لرصد كيف أن كل هذا يؤثِّر في سرعات الطي واستقرار البروتينات وبنيات البروتينات النهائية. ونتيجةً لذلك، بتنا نعلم الكثيرَ عن القوى المعنية، وطريقة تجمُّع الأحماض الأمينية غير المحبة للماء بعضها مع بعض، بحيث تكوِّن نواة، وفي الوقت نفسه تستقر الأحماض الأمينية المشحونة على السطح كي تتفاعل مع المذيب المائي. وقد أدَّى ذلك إلى مفهومٍ يُطلق عليه في بعض الأحيان نموذج التكثيف والتنوي، وفيه تتشكَّل النواة غير المحبة للماء بسرعةٍ وتسحب العناصرَ البنيويةَ الثانويةَ إلى الاتجاهات الصحيحة بعضها بالنسبة إلى البعض.

تنبثق من ذلك نماذجُ لسلوك طي البروتين قائمة على فكرة «مشهد الطي»؛ حيث يكون المسارُ الذي يتخذه البروتين غير المطوي تجاه حالته المطوية شبيهًا بدحرجةِ كرة لأسفل على جانب جبل. تمثِّل كل بقعة في هذا المشهد شكلًا من الأشكال المحتملة العديدة المذكورة في مفارقة ليفينثال، والحالة المطوية هي البقعة الموجودة في أخفضِ نقطة في الوادي. وعلى الرغم من أن هذه الطريقة مفيدةٌ في وصف المسألة، فإن فهْمنا لا يزال قاصرًا فيما يتعلَّق بشكل المشهد الحقيقي لطي البروتين وطريقة توجيه البروتينات إلى المسار (أو المسارات) الصحيح توجيهًا دقيقًا وصولًا إلى الحالة المطوية.

من المنتظر أن تُحل مسألة طي البروتينات بأساليبِ محاكاةِ الكمبيوتر باستخدام قدْرٍ هائل من القدرة الحوسبية. وتحقيقًا لهذه الغاية، فإن أحد أهم مشاريع طي البروتين الحوسبية عبارة عن مشروع يمكن لكمبيوتر أي شخص المساهمةُ فيه. فمنذ عام ٢٠٠٠، وزَّع مشروع فولدنج آت هوم مسائلَ طي البروتينات على أصحاب أجهزة الكمبيوتر غير المستغلة على مستوى العالم. وفي وقتِ تأليف هذا الكتاب، تسهِم مئات الآلاف من المعالجات في هذه المشاريع، حيث فاقت قدرة المعالجة ١٫٥ إكسافلوب. بالمقارنة، فإن

أقوى كمبيوتر فائق في العالم (كمبيوتر ساميت الخاص بشركة آي بي إم) لديه عُشر تلك القدرة الحوسبية؛ إذ تبلغ أعلى قدرة له حوالي ١٤٣ بيتافلوب.

كما هو الحال مع كل المجالات التكنولوجية الأخرى، تتطوَّر الخوارزميات ومكوِّنات الأجهزة المخصَّصة لمسألة طي البروتينات تطورًا سريعًا، لكن يوجد في هذا الإطار نهجان بوجه عام. يستخدم النهج الأول النماذجَ المعتمِدة على القوالب، حيث يُقارَن تسلسلُ البروتين المستهدَف أولًا بتسلسلات بروتينات أخرى ذات بنية معروفة، ثم تُستخدم هذه المعلومات لتقييد النموذج البنيوي للبروتين المستهدَف. تؤدي هذه الطريقة إلى أدقِّ النتائج، لكنها لا تقدِّم في واقع الأمر أيَّ تصوُّر بشأن مشاهد الطي. بدلًا من ذلك، النهج الثاني يهدُف إلى إنشاء حلٍّ كامل لمسألة طي البروتينات من البداية مستمد ممَّا نعرفه من الفيزياء والكيمياء داخل بيئة طي البروتينات.

البروتينات المرافقة

قبل الانتهاء من تناول مسألة طي البروتين، تجدُر بنا الإشارة إلى فئةٍ من البروتينات بالغة الأهمية في قابلية الخلايا للاستمرار. هذه البروتينات تساعد في طي البروتينات الأخرى، ومن ثَم تُعرف باسم البروتينات المرافقة أو الوصيفة. في ظاهر الأمر، يبدو وجودُ هذه البروتينات متعارضًا مع ما جاء بفرضية أنفينسن. لكن يجب أن نتذكَّر أن البيئة داخل الخلية مختلفة تمامًا عن بيئة أنبوب الاختبار. الخلايا أماكن مزدحمة، كما أن البروتينات بداخلها معرَّضة لتغيُّرات في درجات الحرارة وعمليات الضغط الكيميائي، والتي يمكن أن تؤثِّر جميعها في طريقة طي البروتينات. ونتيجة لذلك، يمكن للخلية أن تُراكِم بسرعة بروتينات ذات خلل في الطي. والبروتينات المرافقة تساعد في ضبط كل هذا.

أحد البروتينات المرافقة الذي جرت دراسته جيدًا بنحو خاص هو مركَّب بروتين ضخم يتكوَّن من أربع عشرة سلسلة عديد ببتيد فردية، ويُعرف باسم GroEL. يتخذ هذا البروتين المرافق بنيةً تشبه البرميل ويمكنه أن يبتلع بالكامل البروتين الذي به خلل في الطي. وعندما يفعل ذلك، يغطي مركَّب ثانٍ يسمَّى GroES البرميل. يستخدم المركَّبان الطاقة الكيميائية المخزَّنة في الأدينوسين الثلاثي الفوسفات لفك البروتين ميكانيكيًّا بالداخل ثم السماح له بتكرار محاولة الطي. عندئذٍ، ينفصل غطاء GroES ويُطلَق البروتين المطوي حديثًا مرة أخرى في البيئة الخلوية؛ حيث يمكنه متابعة وظيفته. في واقع الأمر، البروتينات المرافقة لا تتعارض مع فرضية أنفينسن لأنها لا تقدِّم أيَّ معلومات إضافية، بل إنها

بمنزلة مرشدين يوجِّهون البروتين كي يعودَ إلى بداية المسار في الوادي، كما توجِّهه بطول المسار الصحيح عبر مشاهد الطاقة الخاصة به.

البروتينات المضطربة جوهريًّا

تشبيه البروتينات بأنها آلات نانوية — أو روبوتات طبيعية — تشبيهٌ مثير للاهتمام. فمثلما هو الحال مع الروبوتات، فقد صُمِّم العديد من البروتينات (عن طريق التطور) بحيث تكرِّر مهمةً محددة مرارًا وتكرارًا. وينطوي التشبيه أيضًا على أن كل بروتين له بنية محدَّدة، مرتبطة بشدة بوظيفته. في الحقيقة، كان هذا الاعتقاد السائد على مدى القرن العشرين، وقد عزَّزته آلاف البنيات الواضحة التي زخر بها بنك بيانات البروتينات. وهكذا ترسَّخ في عقول علماء الكيمياء الحيوية المعنيين بدراسة البروتين أن تسلسل الأحماض الأمينية يحدِّد البنية الثلاثية الأبعاد، وهذا يؤدي بدوره إلى تحديدِ وظيفة البروتين. رجع جزءٌ كبير من السبب في ذلك إلى التقنية السائدة المستخدَمة لتحديد بنيات البروتينات وهي التصوير البلوري بالأشعة السينية.

على الرغم من الانتشار الواسع لهذه التقنية والنتائج الرائعة التي تحقَّقت من خلاله، فإن لها عيبًا خطِرًا وهو أن البنيات لا يمكن تحديدها إلا إذا كان في الإمكان إنتاجُ بلورات عالية الجودة من الجزيء محل الاهتمام. وهذه المهمة ليست هينة، فقد استُنفدت مسيرات مهنية كاملة في محاولات لبلورة بروتينات صعبة المراس على وجه الخصوص. تنبع المشكلة من حقيقة أن البلورات لا يمكن أن تُنتج إلا إذا تجمَّعت الجزيئات معًا في مصفوفات منظمة. وبناءً على ذلك، من المحتمل أن يتبلور بسهولة شيءٌ له بنية واضحة المعالم، لكن لا يُحتمل أن يتبلور شيء له بنية مضطربة وغير واضحة المعالم. وعلى سبيل التشبيه، بعض البروتينات تشبه مكرونة الاسباجيتي غير المطهوة المعبأة في جرة؛ حيث تصطف جميعُ أعواد المكرونة بترتيب جميل؛ في حين أن بروتينات أخرى تشبه أكثرَ مكرونةَ الاسباجيتي المطهوة والموضوعة في نفس الجرة بحيث تشكِّل أعوادها فوضى متشابكة من دون تنظيم معيَّن.

تكمُن المشكلة في أن التصوير البلوري بالأشعة السينية ينحاز إلى البروتينات المنظِّمة، أو البروتينات التي يمكن إجبارها على الدخول في حالةٍ منظَّمة معيَّنة. ونتيجة لذلك، أصبح تمثيلُ ما يُعرف باسم البروتينات المضطربة جوهريًّا قاصرًا في بنك بيانات البروتينات. ليس هذا فحسب، بل بات يتضح الآن أننا، بحشر البروتينات داخل بلورات، ربما لم

ننتبِه إلى الاضطراب الجوهري المنتشر في عالَم الكيمياء الحيوية، حيث إن ٥٠ بالمائة من البروتينات تحتوي على مناطقَ كبيرة من الاضطراب. يبدو أن العديد من البروتينات «على حافة الفوضى»؛ إذ تتأرجح بين حالة الانتظام والاضطراب حسبما تقتضي الضرورة. يتضح الآن أن البروتينات المضطربة جوهريًّا لها عدة أدوار، مثل أنها بمنزلة ملاط جزيئي يثبت المركَّبات المتعددة البروتينات بعضها مع بعض، أو أنها في بعض الحالات تتخذ عدةَ أشكال ووظائف بناءً على شركائها المرتبطة بها. لا يزال فهمُنا لهذه البروتينات غيرِ المُنتبه لها والغامضة في مراحله الأولى، ولكن الواضح أن درجة المرونة في بنية البروتينات ووظيفتها أكبرُ بكثيرٍ مما كان يُعتقد.

الفصل الرابع

الأحماض النووية: المخطَّطات الأولية للحياة

العقيدة الأساسية في علم الأحياء الجزيئي

في عام ١٩٥٨، وصف فرانسيس كريك العقيدةَ الأساسية في علم الأحياء الجزيئي كما يلي.

> تنصُّ هذه العقيدة على أنه بمجرد تمرير «المعلومات» إلى البروتين، فإنها لا يمكن أن تخرج منه مرةً أخرى. لمزيد من التوضيح، من الممكن أن تُنقل المعلومات من حمض نووي إلى حمض نووي آخر أو من حمض نووي إلى بروتين، لكن يستحيل نقلُ المعلومات من بروتين إلى بروتين آخر أو من بروتين إلى حمض نووي. يُقصد بالمعلومات في هذا السياق التحديد الدقيق للتسلسل، سواء ذلك الخاص بالقواعد في الحمض النووي أو ببقايا الحمض الأميني في البروتين.

أو بعبارة أخرى، تسلسل الدي إن إيه يحدِّد تسلسل الأحماض الأمينية في البروتين، وليس العكس. ومع إجراء بعض التعديلات الطفيفة، أبرزُها تخفيف كلمة «مستحيل» إلى شيء أقل تقييدًا، فلا تزال العقيدةُ الأساسية صحيحة.

تتكوَّن العقيدةُ الأساسية مما يلي: تضاعُف الدي إن إيه وهو النسخ المباشر للمعلومات (حسب تعريف كريك)؛ والنسخ وهو عملية إنشاء الآر إن إيه من قالب دي إن إيه؛ والترجمة وهي إنشاء تسلسل بروتين من قالب آر إن إيه. في الواقع، العقيدة الأساسية أعقدُ من ذلك بقليل؛ حيث إن الآر إن إيه يمكن أيضًا أن يكون بمنزلة قالب للدي إن إيه والآر إن إيه. ولكن تحقيقًا للإيجاز، سأكتفي بهذه الخطوات الثلاث. وفي بقية هذا الفصل، سنلقي

نظرةً أقربَ على شكل جزيء الحمض النووي ووظيفته، وكيف أنهما يعززان تدفُّقات البيانات الثلاثة الأساسية الخاصة بالعقيدة الأساسية.

النيوكليوتيدات والأشرطة وأزواج القواعد

يمكن القول إن بنيةَ اللولب المزدوج للدي إن إيه تجعله أبرز الجزيئات. لكن الصور التي نراها كثيرًا في الأعمال المطبوعة وعلى الشاشات نادرًا ما تكشف عن لبنات البناء الكيميائية للدي إن إيه ولا تكشف عن طريقة تجمعها معًا بحيث تكوِّن اللولب المزدوج. كذلك نادرًا ما يُذكر الآر إن إيه وهو قريب الدي إن إيه الكيميائي مع أنه جزيء أكثر تنوعًا بكثير وله العديد من الأدوار في الكيمياء الحيوية.

كما رأينا في الفصل الأول، تتكوَّن الأحماض النووية من النيوكليوتيدات، والتي بدورها تتكوَّن من ثلاثة مكوِّنات كيميائية وهي: سكر ريبوز مكون من خمس ذرات كربون، ترتبط به قاعدة (جوانين أو سايتوسين أو أدينين أو ثايمين أو يوراسيل) ومجموعة فوسفات. دائمًا ما ترتبط القاعدة بأول ذرة كربون في السكر (والتي تُعرف باسم ذرة الكربون ١′) وفي الوقت نفسه ترتبط مجموعة الفوسفات بذرة الكربون الخامسة (٥′) (انظر الشكل ٤-١).

يتمثَّل الفرق بين الدي إن إيه والآر إن إيه في بعض التغييرات الكيميائية الدقيقة في القاعدة وسكر النيوكليوتيدات. فيحتوي الآر إن إيه على مجموعة هيدروكسيل (OH-) مرتبطة بذرة الكربون الثانية (٢′) في سكر الريبوز، أما ذرة الكربون الثانية في الدي إن إيه فترتبط بها ذرة هيدروجين. وفي الوقت نفسه، يفتقر اليوراسيل (الذي يستخدمه الآر إن إيه) إلى مجموعة ميثيل، في حين أن الثايمين (في الدي إن إيه) يحتوي على مجموعة ميثيل.

تتكوَّن أشرطة الأحماض النووية عن طريق الارتباط التساهمي لذرة الكربون الثالثة (٣′) مع مجموعة الفوسفات للنيوكليوتيدة السابقة. وهذا أتاح لنا تحديدَ قدْر من الاتجاهية في السلسلة؛ حيث إن الطرَف ٣′ يبدأ بذرة سكر ريبوز، وينتهي الطرف ٥′ بمجموعة فوسفات.

يتكوَّن كل لولب مزدوج خاص بالدي إن إيه من شريطين فرديين متضادَّي التوازي (ما يعني أن الطرَف ٣′ لأحد الجزيئات يصطف مع الطرَف ٥′ للجزيء الآخر). يرتبط هذان الشريطان أحدهما مع الآخر عبْر روابط هيدروجينية غير تساهمية تتكوَّن بين

مجموعة ميثيل تميز الثايمين عن اليوراسيل

القاعدة

(ب) الثايمين

(أ) الأدينين

سكر ريبوز

فوسفات

(ج) الجوانين

(د) السايتوسين

لاحظ مجموعة الهيدروكسيل التي تميز الآر إن إيه عن الدي إن إيه

(هـ) اليوراسيل

شكل ٤-١: نيوكليوتيدات الدي إن إيه الأربع، وهي (أ) الأدينين و(ب) الثايمين و(ج) الجوانين و(د) السايتوسين؛ ومثال على نيوكليوتيدة آر إن إيه وهي (هـ) اليوراسيل.

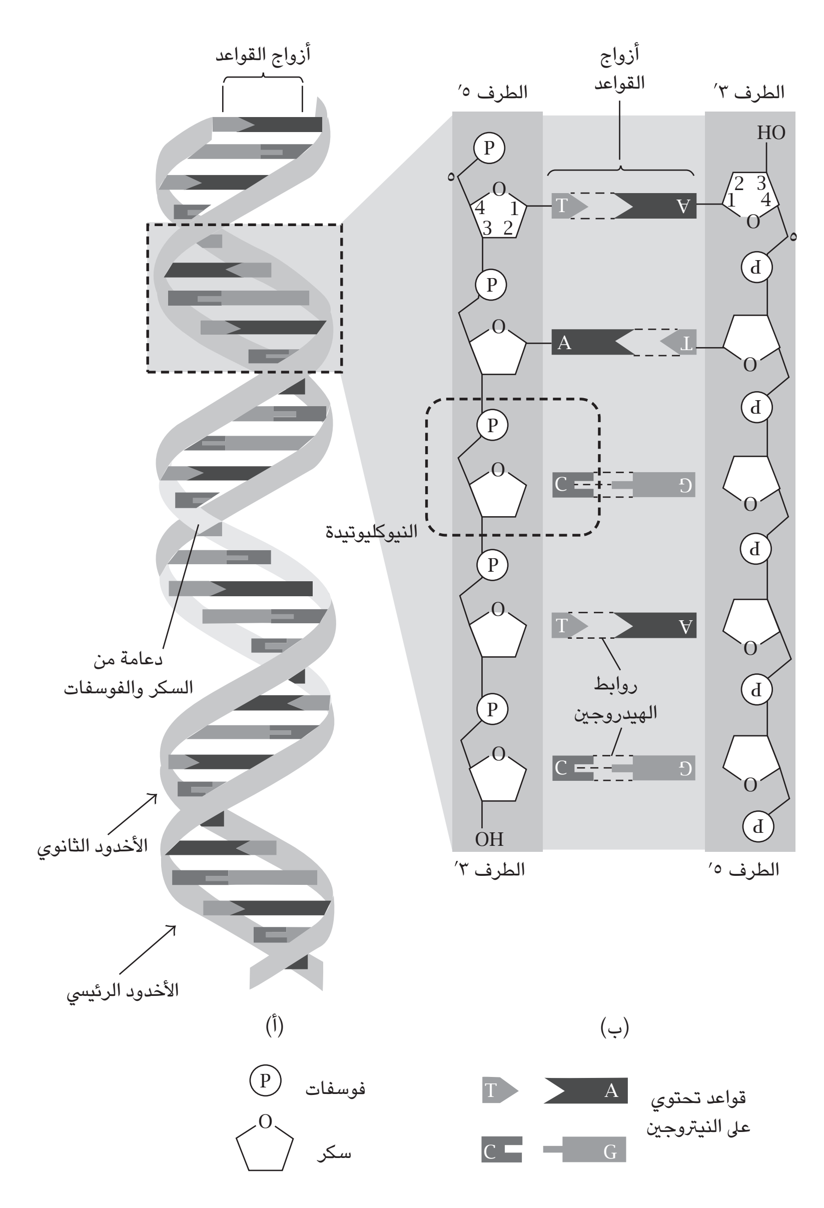
القواعد. وتتكوَّن أزواج القواعد في الدي إن إيه من اقتران الجوانين مع السايتوسين والأدينين مع الثايمين. أما الآر إن إيه فيتكوَّن في الغالب من شريط واحد، ولكن عندما يكوِّن شريطين فإن الأدينين يقترن مع اليوراسيل.

إن هذا الاقتران المتسق بين قواعد الجوانين مع السايتوسين والأدينين مع الثايمين هو الذي يسهِّل نسخ تسلسلات الدي إن إيه في أثناء انقسام الخلية نسخًا دقيقًا. وعند الحاجة إلى نسخة جديدة من الدي إن إيه، ينفك اللولب المزدوج وينفصل الشريطان. حينئذٍ، يصبح كل شريط بمنزلة قالب يُنتج منه شريط فرعي. وهذه العملية المتمثلة في بناء شريط دي إن إيه جديد من قالب تنفِّذها فئة من الإنزيمات تسمَّى إنزيمات بوليميراز الدي إن إيه. وبما أن قاعدة الجوانين تقترن دومًا مع قاعدة السايتوسين، وقاعدة الأدينين تقترن مع قاعدة الثايمين، فإن إنزيم بوليميراز الدي إن إيه يضع قاعدة سايتوسين في الشريط الفرعي؛ حيث توجد قاعدة جوانين في الشريط الأصلي. يحدُث الأمر نفسه مع القاعدتين الأدينين والثايمين. وعند هذا المستوى، تبدو العملية بسيطةً للغاية، ولكنها في الواقع تتضمَّن عشرين بروتينًا آخر على الأقل يتضافر بعضها مع بعض في العمل. يُعرف هذا المركَّب المذهل باسم جسيم التضاعف وسنتناوله في الفصل السادس.

البنيات الثانوية للحمض النووي

ألقينا نظرةً على العناصر الأولية والثانوية والثلاثية التي يتكوَّن منها التسلسل الهرمي البنيوي للبروتينات، وتوجد فئاتٌ مماثلة في الأحماض النووية. لكن في حالة الأحماض النووية، فإن البنية الأولية يحدِّدها تسلسل النيوكليوتيدات بدلًا من الأحماض الأمينية.

في البروتينات، البنية الثانوية تحدِّدها روابطُ الهيدروجين بين المجموعات الأمينية ومجموعات الكربونيل ما يؤدي إلى تكوُّن لوالب ألفا وصفائح بيتا. أما في حالة الأحماض النووية، فإن تفاعلات اقتران القواعد هي التي تحدِّد البنية الثانوية. الجمال البسيط للولب المزدوج للدي إن إيه هو أوضح مثال على البنية الثانوية للحمض النووي. في واقع الأمر، بإمكان الدي إن إيه أن يتخذ ثلاث بنيات لولبية ذات صلة بيولوجيًّا. أشيعها هي بنية الدي إن إيه B (B–DNA) (انظر الشكل ٤-٢)، وهي تلك التي وصفها كلٌّ من واتسون وكريك وويلكنز. هذا الشكل عبارة عن لولب يميني الاتجاه (تلتف السلسلة باتجاه عقارب الساعة حين النظر في محور اللولب)، وتحدُث لفة كل عشر نيوكليوتيدات، كما أن اللولب المزدوج له أخدودان مختلِفا الحجم اختلافًا ملحوظًا، وهما: الأخدود الرئيسي والأخدود



شكل ٤-٢: اللولب المزدوج لبنية الدي إن إيه B (أ)، واقتران القواعد الذي يربط الشريطين معًا (ب).

الثانوي. بنية الدي إن إيه A (A-DNA) اكتشفتها روزاليند فرانكلين ورايموند جوزلينج في بلوراتهما. كثيرًا ما تتكوَّن بنية الدي إن إيه هذه حين يجفُّ الدي إن إيه، وقد تبيَّن أن هذه البنية تتخذها الأبواغ البكتيرية اليابسة. بنية الدي إن إيه A يمينية الاتجاه هي الأخرى، لكن بالمقارنة مع بنية الدي إن إيه B، فإنها أعرض ويبدو أنها أشبه بزنبرك مضغوط. وفي الوقت نفسه، فإن بنية الدي إن إيه Z (Z-DNA) عبارة عن لولب يساري الاتجاه ممدود، وعلى عكس الشكلين A وB، لا يكاد يوجد فرق بين الأخدودين الرئيسي والثانوي. يظهر الشكلان A وB في الوظائف الحيوية الطبيعية، أما الشكل Z فلا يظهر إلا في بعض الحالات المرَضية.

في المقابل، غالبًا ما يتكوَّن الآر إن إيه من شريط واحد، على الرغم من أن الجزيئات كثيرًا ما تحتوي على مناطقَ ذات تسلسلات تكميلية، ما يؤدي إلى ظهور تفاعلات داخل الشريط. يؤدي هذا إلى مجموعة من البنيات الثانوية، ومنها اللوالب المزدوجة، التي تميل عادةً في حالة الآر إن إيه إلى التشابه مع بنية الدي إن إيه A. تظهر هذه البنيات في الغالب على شكل دبوس شَعر، وتتميز بجذع لولبي قصير مقترن القواعد تعلوه حلقة من القواعد غير المقترنة. ينشأ المزيد من تعقيد البنيات الثانوية من التفاعلات بين البنيات التي تتخذ شكل دبوس الشعر، عندما تقترن أجزاء من قاعدة الحلقة بعضها ببعض، ما يكوِّن عُقدًا كاذبة.

عالَم الآر إن إيه

تنطوي العقيدة الأساسية في صميمها على موقفٍ أشبه بمعضلة الدجاجة والبيضة. الحياة بحاجة إلى جزيئاتٍ لديها مجتمعةً القدرةُ على إنتاج المزيد من الجزيئات المماثلة لنفسها. بإمكان البروتينات القيامُ بنصف هذه المهمة. فهي «أدوات تصنيع» ممتازة لديها القدرة على تكوين البنيات المتعددة والوظائف المرتبطة بها اللازمة لتحفيز مجموعة كبيرة من التفاعلات الكيميائية. على سبيل المثال، بإمكان البروتينات ربطُ قواعد النيوكليوتيدات في امتدادات من الدي إن إيه والآر إن إيه. لكن لا توجد آلية معروفة يمكن أن تستخدمها البروتينات كي تنسخ نفسها. وفي الوقت نفسه، الدي إن إيه ينتج جزيئًا ممتازًا لتخزين البيانات، وهذا الجزيء له بنية ملائمة لآلية تضاعف بسيطة. لكن الدي إن إيه لا يمكنه تحفيزُ التفاعلات، ومن ثَم لن يُنسخ أبدًا تسلسل الدي إن إيه من دون البروتينات وستستحيل عملية الوراثة. باختصار، تضاعُف الجينات بحاجة إلى البروتينات، ولا يمكن

تصنيع البروتينات من دون المعلومات المتضمَّنة في الجينات. بناءً على ضرورة التعاون هذه بين الدي إن إيه والبروتينات، فالسؤال هو: كيف يمكن أن يكون قد بدأ هذا النظام التآزري؟

توجد عدة نظريات، ومنها التزامن في تطوُّر الدي إن إيه والبروتينات، أو فرضية «البروتينات أولًا» التي تقول إن بروتيناتٍ صغيرة نسخت نفسها بالفعل باستخدام آليةٍ ما اندثرت الآن في غياهبِ الزمن التطوري. لكن النظرية السائدة تكمُن في وجود آلة جزيئية متعددة الوظائف، وهي نظرية تُعرف باسم عالَم الآر إن إيه. يقول هذا السيناريو إنه قبل ظهور خلايانا الحالية المليئة بالدي إن إيه والبروتينات، كان هناك شكلٌ من أشكال الحياة معتمد على الآر إن إيه. تعود صلاحية هذه النظرية إلى أن الآر إن إيه يبدي بعضَ خصائص كلٍّ من البروتينات والدي إن إيه. وعليه، يمكن أن يعمل بمنزلة مخزن للمعلومات الوراثية، ولا تزال بعض الفيروسات تستخدمه لهذا الغرض. إضافة إلى ذلك، فإن البنيات التي على شكل دبابيس شعر والعُقد الكاذبة وغيرها من العناصر البنيوية الثانوية يمكن أن تُطوى لتكوين بنيات معقَّدة قادرة على تحفيز التفاعلات الكيميائية.

لا يزال بالإمكان رؤية بقايا عالَم الآر إن إيه هذا كامنة في الأركان الكيميائية الحيوية للخلية. وقد اكتُشف بعضه في ثمانينيات القرن العشرين عندما كان توماس تشيك يدرُس الآلية التي يتم بها تضفير جزء من الآر إن إيه. حاول قدْر جهده، ولكنه لم يستطِع التوصُّل إلى البروتين المسئول عن التفاعل، لكنه استنتج في النهاية أن الآر إن إيه يمكنه أن يضفر نفسه. بعد ذلك، صاغ تشيك مصطلح ribozymes؛ أي الريبوزيمات (وهي لفظة اقترانية مشتقة من ribonucleic acid enzymes؛ أي إنزيمات الآر إن إيه) كي يصف الآر إن إيه النشط تحفيزيًّا هذا.

اكتشافات تشيك والاكتشافات المماثلة لغيره أعطت ثِقلًا لفرضية عالَم الآر إن إيه، ولكن كانت لا تزال هناك حاجة إلى برهان يثبت أن الآر إن إيه يمكن بالفعل أن ينسخ نفسه كي تُحل معضلة الدجاجة أَم البيضة المتضمَّنة في هذا الأمر. وحتى الآن، لم يرصد أحدٌ دليلًا على ذلك في الأنظمة الطبيعية، وهو ما لا يدعو إلى المفاجأة؛ لأنه كان سيصبح زائدًا عن الحاجة في الأنظمة الفعَّالة أكثر القائمة على البروتين. ومع ذلك، أنشأ العلماء ريبوزيمات اصطناعية قادرة على استنساخ نفسها، مما يثبت أنَّ السيناريو القائل بأن الأنظمة الحية يمكن أن تقوم على الآر إن إيه الذاتي التضاعف، ممكنٌ من منظور الكيمياء الحيوية على الأقل.

النَّسخ وبنيات الجينات

في اللغة الدارجة، الكروموسومات والجينات والدي إن إيه كلماتٌ شبه مترادفة، لكن في الواقع الكروموسومات هي البنيات التي تُخزَّن فيها الجينات، والجين هو امتداد الدي إن إيه الذي يشفِّر جزيئًا آخرَ وظيفيًّا من الناحية الحيوية؛ أي البروتينات والآر إن إيه. بالإضافة إلى منطقة التشفير هذه، سيحتوي الجين على سلسلةٍ من التسلسلات التي تنظِّم طريقةَ نسخ الجينات.

عند الحاجة إلى المعلومات الجينية، تُنتَج نسخٌ من الجينات وتُنقل إلى أجزاء أخرى من الخلية. والآر إن إيه المرسال هو المادة المستخدَمة لعمل هذه النُّسخ وتتشابه طريقةُ تكوينه إلى حدٍّ بعيد مع طريقة تكوين شريط فرعي من الدي إن إيه من قالبٍ ما. في هذه الحالة، يكمُن الفرْق في أن الإنزيمات المسئولة عن اقتران القواعد (السايتوسين مع الجوانين والأدينين مع اليوراسيل) هي إنزيمات بوليميراز الآر إن إيه (وليس الدي إن إيه).

يُعرف شريط الدي إن إيه الذي سيجري نسخه (بنحوٍ غير متوقَّع نوعًا ما) بأنه الشريط غير المشفِّر لأنه بلعبه دورَ القالب، فإن الآر إن إيه المرسال الناتج سيحتوي على تسلسل تشفير تكميلي. ومثلما هو الحال في أي عملية تصنيع، يلزم توفُّر إشاراتٍ للدلالة على موعد بدء الإنتاج وكمِّ الإنتاج المطلوب. لذا يوجد بالقرب من جزء التشفير أو بداخله نطاقٌ من التسلسلات الأخرى التي يؤدي العديد منها أدوارًا تنظيمية. وبداخل الجين، تُسبق مناطقُ التشفير هذه بتسلسلات «محفِّزة» تفعل ذلك بالضبط.

تحتوي بدائيات النوى بوجه عام على تسلسلين محفِّزين يقعان على مسافة عشر نيوكليوتيدات وخمس وثلاثين نيوكليوتيدة تقريبًا قبل نقطة بدء النَّسخ. وتكشف المقارنة بين مئات الجينات عن وجود تسلسل توافقي وهو 5′−TTGACA−3′ و5′−TATAAT−3′ للصندوقين −٣٥ و−١٠ (حسب تسميتهما خياليًّا) على التوالي. ترتبط البروتينات المعروفة بأنها عواملُ نسخٍ بمواقع المحفِّزات هذه، ثم تجلِب إنزيماتُ بوليميراز الآر إن إيه إلى المنطقة. أما معدَّل نسْخ الجينات فيُنظَّم من خلال التباينات في تسلسلات المحفِّزات. فكلما زاد الانحراف عن التسلسل التوافقي، قلَّ تقاربه من عامل النسخ، ومن ثَم يقل معدَّل نسخ الجين. وعلى العكس من ذلك، فإن البروتينات المطلوبة بأعداد كبيرة سيكون لها تسلسل محفِّز يتطابق إلى حدٍّ بعيد مع التسلسل التوافقي.

لا يقلُّ إنهاءُ عملية النَّسخ أهميةً عن بدئها. فمن دون وجود بعض التحكم، ستندفع بسرعة إنزيمات بوليميراز الآر إن إيه بطول تسلسل الدي إن إيه مثل القطار الخارج عن السيطرة، مما يؤدي إلى إنتاج الآر إن إيه المرسال بأعداد وسرعة كبيرة بطول الطريق. في البكتيريا، توجد آليتان للإنهاء، تتضمن الأولى بروتينًا يسمَّى رو هيليكاز يرتبط بمنطقة غنية بالسايتوسين في الآر إن إيه المرسال المكوَّن حديثًا. إن وجود بروتين رو يزعزع استقرار التفاعلات بين الآر إن إيه المرسال والدي إن إيه، ما يؤدي إلى انفصالهما وإنهاء عملية النَّسخ. تتضمَّن الآلية الثانية جزءًا غنيًّا بالسايتوسين/الجوانين في الآر إن إيه المرسال الذي تتكوَّن بداخله أزواجُ القواعد. وتؤدي بنية دبوس الشَّعر الناتجة فعليًّا إلى إيقاف عمل إنزيم بوليميراز الآر إن إيه، ومن ثَم تتوقَّف عملية النَّسخ.

الترجمة

بوصولنا إلى هنا، أرجو أن يكون واضحًا أن الدي إن إيه والآر إن إيه جزيئان متماثلان بشدة، حيث إن كليهما لهما تسلسلات مكتوبة بأبجدية متشابهة مكوَّنة من أربعة حروف. لكن البروتينات جزيئات مختلِفة تمامًا؛ حيث إنها تتكوَّن من عشرين حمضًا أمينيًّا مختلفًا. لذا فإن ترجمة المعلومات المتضمَّنة في تسلسل جين إلى تسلسل بروتين تحتاج إلى آلية مختلِفة تمامًا عن اقتران القواعد البسيط المستخدَم في نقل المعلومات من الدي إن إيه إلى الآر إن إيه.

بعد اكتشاف بنية الدي إن إيه، أصبح تحديدُ آلية الترجمة أحدَ أكثر المسائل إلحاحًا حينذاك. كانت المسألة بسيطة. لا تحتوي الأحماض النووية إلا على أربع قواعد. لكن الجينات بطريقةٍ ما تشفِّر العشرين حمضًا أمينيًّا المختلفة الموجودة في البروتينات. ومن ثَم، كيف يمكن لأبجدية من أربعة حروف أن تُترجَم إلى أبجدية مكوَّنة من عشرين حرفًا؟ ما الطُّرق التي يمكن أن يستخدمها علم الأحياء من أجل ذلك؟

من أبرز المحاولات لحل هذه المسألة محاولةٌ قام بها فرانسيس كريك. لقد رأى المسألة بالطريقة التالية: لا بد أن الشفرة الجينية تتكوَّن من ثلاثيات قواعد غير متداخلة. لكن إذا كان الحال كذلك، فكيف يمكن تمييز ثلاثية عن الثلاثية التالية؟ ففي النهاية لا توجد علامات ترقيم في الدي إن إيه. يشبه هذا إيجاد كلمات من ثلاثة حروف في SATEATEATS من دون أي مسافات. يمكن أن تكون الكلمات هي: SAT EAT EAT أو ATE ATE ATS أو TEA TEA، ويعتمد هذا على موضع بدء تكوين الكلمات.

توصَّل كريك إلى نظريةٍ رائعة أسماها «شفرات من دون فاصلات». أخذ الأربع والستين شفرة المحتملة للثلاثيات وجمعها معًا في مجموعات وفقًا لما إذا كان لديها التباديل الدائرية نفسها (بمعنًى آخر، توجد ACG وCGA وGAC في مجموعة واحدة؛ وCCG وGCC وCGC في مجموعة أخرى، وهكذا). عندئذٍ، طرح فرضيةً تقول إنه لن يُستخدم غير تسلسل واحد من كل مجموعة لتشفير أيِّ حمض أميني. أطلق على هذه الكودونات «ذات المعنى». ثم أطلق على الباقي الكودونات «الخالية من المعنى». ومن ثَم إذا كان للكودونين ACG وCCG معنًى، يمكن للتسلسل ACGCCGACG أن يُقرأ ACG CCG ACG؛ لأن الكودونين CGC وCGA لا معنى لهما.

أيضًا في سلة الكودونات الخالية من المعنى، توجد الكودونات AAA وUUU وGGG وCCC؛ لأنها ستسبِّب لبْسًا بشأن موضع بداية الكودون (على سبيل المثال، هل التسلسل CCCCGGG يُقرأ CCC CGG أم CCC GGG؟). نظرية الشفرات من دون فاصلات التي طرحها كريك أعطتنا ٦٤ كودونًا محتملًا في المجمل، وباستبعاد الكودونات CCC وGGG وAAA وUUU يتبقى لدينا ٦٠ كودونًا. ومن بين الكودونات المتبقية هذه، فقط كل كودون ثالث هو الذي «ذو معنًى»، ومن ثَم يتبقى ٢٠ كودونًا لتشفير العشرين حمضًا أمينيًّا.

كانت الشفرات من دون فاصلات فكرة رائعة جدًّا، وتوافقت الأعداد تمامًا لدرجة أن الجميع قبِلَها معظم الوقت على مدى خمس سنوات. لكن في عام ١٩٦١، أنتج مارشال نيرنبرج ويوهان هينريش ماتاي امتدادًا من الآر إن إيه يتكوَّن من اليوراسيل فقط. وعندما أضافاه إلى مزيج الريبوسومات وأحماض الآر إن إيه الناقلة والأحماض الأمينية الضروري من أجل الترجمة، كانت النتيجة سلسلة عديد ببتيد من الفنيلالانين الصافي. وفقًا لنظرية كريك، من المفترض أن عديد يوراسيل كان سلسلة خالية من المعنى، ومن ثَم بقيت نظرية الشفرات من دون فاصلات التي طرحها على أرففِ النسيان في تاريخ الكيمياء الحيوية.

في الحقيقة، الشفرة الجينية أبسطُ بكثير. إذ يُفسَّر على نحوٍ كبير وجود الكودونات الثلاثية الأحرف الأربعة والستين المحتملة بناءً على حقيقةِ أن معظم الأحماض الأمينية (باستثناء الميثيونين والتربتوفان) تُمثَّل بأكثرَ من كودون واحد. على سبيل المثال، الكودونات GUU وGUC وGUA وGUG يترتَّب عليها إنتاج الفالين.

توجد أيضًا أربعة كودونات تؤدي وظائفَ إضافية. الكودون AUG يشفِّر الميثيونين، لكنه أيضًا كودون البداية؛ إذ يشير إلى النقطة التي تبدأ عندها عملية الترجمة في تسلسل

الحرف الثاني

الحرف الأول	U	C	A	G	الحرف الثالث
U	UUU، UUC: الفنيلالانين؛ UUA، UUG: اللوسين	UCU، UCC، UCA، UCG: السيرين	UAU، UAC: التايروسين؛ UAA: توقُف؛ UAG: توقُف	UGU، UGC: السيستين؛ UGA: توقُف؛ UGG: التربتوفان	U C A G
C	CUU، CUC، CUA، CUG: اللوسين	CCU، CCC، CCA، CCG: البرولين	CAU، CAC: الهيستيدين؛ CAA، CAG: الجلوتمين	CGU، CGC، CGA، CGG: الأرجينين	U C A G
A	AUU، AUC، AUA: الإيسولوسين؛ AUG: الميثيونين	ACU، ACC، ACA، ACG: الثريونين	AAU، AAC: الأسباراجين؛ AAA، AAG: اللايسين	AGU، AGC: السيرين؛ AGA، AGG: الأرجينين	U C A G
G	GUU، GUC، GUA، GUG: الفالين	GCU، GCC، GCA، GCG: الألانين	GAU، GAC: الأسبارتات؛ GAA، GAG: الجلوتامات	GGU، GGC، GGA، GGG: الجلايسين	U C A G

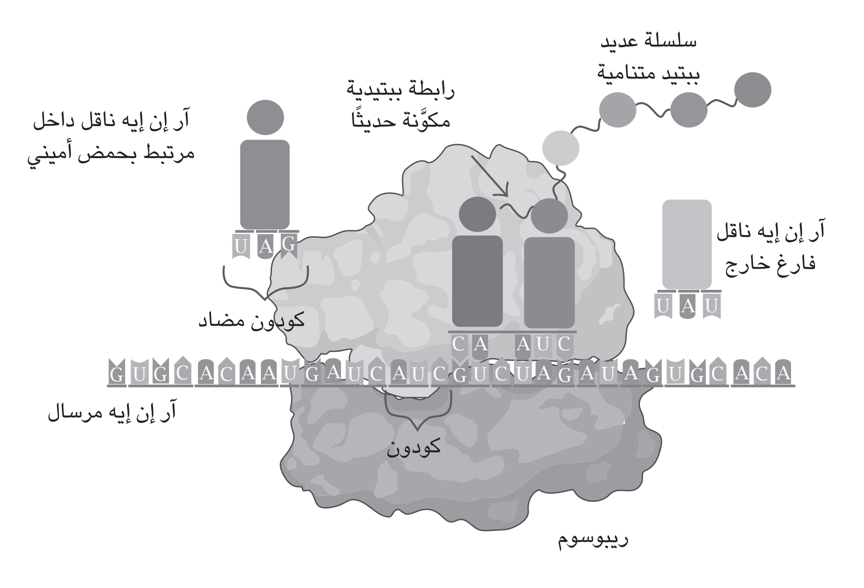
شكل ٤-٣: الشفرة الجينية.

الآر إن إيه المرسال. لكن الكودونات UGA وUAG وUAA هي كودونات توقُّف؛ حيث إنها تشير إلى النقطة التي ينبغي أن تتوقَّف عندها عملية الترجمة في جزيء آر إن إيه مرسال. العجيب أن هذه الشفرة الجينية (انظر الشكل ٤-٣) تتشاركها (مع وجود بعض التباينات النادرة والطفيفة) كلُّ أشكال الحياة على الأرض.

هنا، تظهر تأثيرات الطفرات. ويمكن للتكرار في النظام أن يخفِّف من تأثير بعض التغييرات التي تطرأ على الشفرة الجينية؛ على سبيل المثال، يتحمَّل تسلسلُ أيِّ بروتين أي طفرة تُغير النيوكليوتيدة الأخيرة في كودون الفالين (وتُعرف تلك الطفرات باسم الطفرات الصامتة). وغالبًا ما تكون البروتينات قويةً بالقدْر الكافي الذي يجعلها تستوعب التغييرات

التي تؤدي إلى تبديل الحمض الأميني. لكن في بعض الحالات حتى التغيير في حرف واحد — مثل تغيير GAG إلى GTG الذي يؤدي إلى إحلال الفالين محل الجلوتامات — قد يؤدي إلى أعراض خطِرة. وعندما يحدُث هذا في نقطةٍ معيَّنة من جين الهيموجلوبين، تكون النتيجة الإصابةَ بداء الخلايا المنجلية.

تحدُث الترجمة في بنيات كبيرة ودقيقة قائمة على الآر إن إيه تسمَّى الريبوسومات. وربما تكون هذه الآلات الجزيئية النموذجية بقايا أخرى من عالَم الآر إن إيه. فمنذ ذلك الحين، مرَّت هذه الآلات بتطوُّر كبير، وأصبح الآن هناك تباينات جوهرية في شجرة الحياة. لكن بوجه عام، هي تتكوَّن من ثلاث أو أربع سلاسل من الآر إن إيه وكذلك عشرات بروتينات السقالات التي تكوِّن معًا وحداتٍ فرعيةً منفصلة.



شكل ٤-٤: أحماض آر إن إيه ناقلة محمَّلة بالأحماض الأمينية ترتبط بكودونات في آر إن إيه مرسال داخل ريبوسوم. يحفِّز الريبوسوم تكوينَ روابط ببتيدية بين الأحماض الأمينية لتخليق البروتينات.

يُدخَل شريط من الآر إن إيه المرسال في الوحدة الفرعية الريبوسومية الأصغر. وفي الوقت نفسه، الأحماض الأمينية تُنقل إلى الوحدة الفرعية الريبوسومية الأكبر، وترتبط بها لنقل أحماض الآر إن إيه (الآر إن إيه الناقل؛ انظر الشكل ٤-٤). يوجد ٦١ آر إن إيه

ناقلًا مختلفًا؛ أي واحدًا لكل كودون تشفير حمض أميني، ويحتوي كل آر إن إيه ناقل على تسلسل حرٍّ ثلاثي الأحرف (كودون مضاد) يُعَد تكميليًّا لذلك الكودون. على سبيل المثال، توجد أربعة أحماض آر إن إيه ناقلة لحمل الفالين، وهي تحتوي على الكودونات المضادة CAA وCAG وCAU وCAC التي تُعَد تكميلية لكودونات الفالين: GUU وGUC وGUA وGUG. يساعد الريبوسوم في ربط أحماض الآر إن إيه الناقلة بالكودون الصحيح في الآر إن إيه المرسال، ثم يبقى على هذا إلى أن يرتبط آر إن إيه ناقل آخر. عندئذٍ، يكون الحمضان الأمينيان قريبين بعضهما من بعض، ما يتيح للريبوسوم أن يحفِّز تكوين رابطة ببتيدية بينهما. وحينها، يُحرَّر الآر إن إيه الناقل الأول والخالي من الحمض الأميني ويتحرَّك الريبوسوم بطول الآر إن إيه المرسال. تتكرَّر عملية ربط الآر إن إيه الناقل والتحفيز وتحرُّك الريبوسوم حتى يصادف كودون توقُّف، لا يوجد له أحماض آر إن إيه ناقلة. بدلًا من ذلك، ترتبط بروتينات تسمَّى عوامل الإطلاق في هذا الموضع وتعمل على طرد الريبوسوم من الآر إن إيه المرسال، وفي هذه العملية ينطلق البروتين المكوَّن حديثًا في السيتوبلازم حيث يتمتَّع بالحرية في الطي والعمل.

الفصل الخامس

إمداد الخلايا بالطاقة: عِلم الطاقة الحيوية

بما أننا تعرَّفنا الآن على كل مجموعات الجزيئات الكبيرة والدقيقة التي لها دور في الكيمياء الحيوية، فقد حان الوقت لدراسة بعض الأمثلة على طريقة عمل هذه الجزيئات معًا بحيث تكوِّن مسارات مترابطة من التفاعلات الكيميائية.

يميل الكون نحو الفوضى، والحياة في أساسها معركةٌ ضد تلك الإنتروبيا المتزايدة. مواجهة الإنتروبيا تحتاج إلى طاقة. وبالنسبة إلى كل أشكال الحياة على الأرض تقريبًا (سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة)، فإن مصدر هذه الطاقة هو الشمس. وبالطبع البناء الضوئي هو العملية الكيميائية الحيوية التي تجمع أشعةَ الشمس وتستخدم طاقتها لتحويل ثاني أكسيد الكربون والماء إلى كربوهيدرات.

لما كان ضوء الشمس مصدرًا غنيًّا بالطاقة، فلا عجب أن يطوِّر أكثرُ من شكل من أشكال الحياة عملياتٍ لجمع ضوء الشمس. فالطحالب الحمراء والخضراء والهالوبكتيريا الأرجوانية وبكتيريا البناء الضوئي الحمراء، وبالطبع النباتات الخضراء، تستخدم كلها وسائلَ متنوعة لاحتجاز الطاقة من أشعة الشمس. لكن في كل الحالات، يبدأ البناء الضوئي باصطدام فوتون ضوء بجزيء صبغة. بالنسبة إلى الهالوبكتيريا الأرجوانية، فجزيء الصبغة ذاك عبارة عن نوع من فيتامين A يسمَّى الريتينال (والذي هو أيضًا جزيء الصبغة في بروتينات استشعار الضوء في أعيننا)، وصبغة الفيكوارثرين هي التي تعطي للطحالب الحمراء لونَها، لكن جزيئات الصبغة الحمراء المائلة إلى اللون البرتقالي التي تسمَّى الكاروتنويدات لها دورٌ في النباتات والطحالب الخضراء. لكن أشهر جزيئات الصبغة التي تُجمِّع الضوء هي الكلوروفيل. وفي الحقيقة، يوجد جزيئان شائعان مختلفان من جزيئات الكلوروفيل تستخدمهما النباتات (وهما الكلوروفيل A والكلوروفيل B)، ولكني لن أفصِّل الفرق بينهما انطلاقًا من مبدأ الإيجاز.

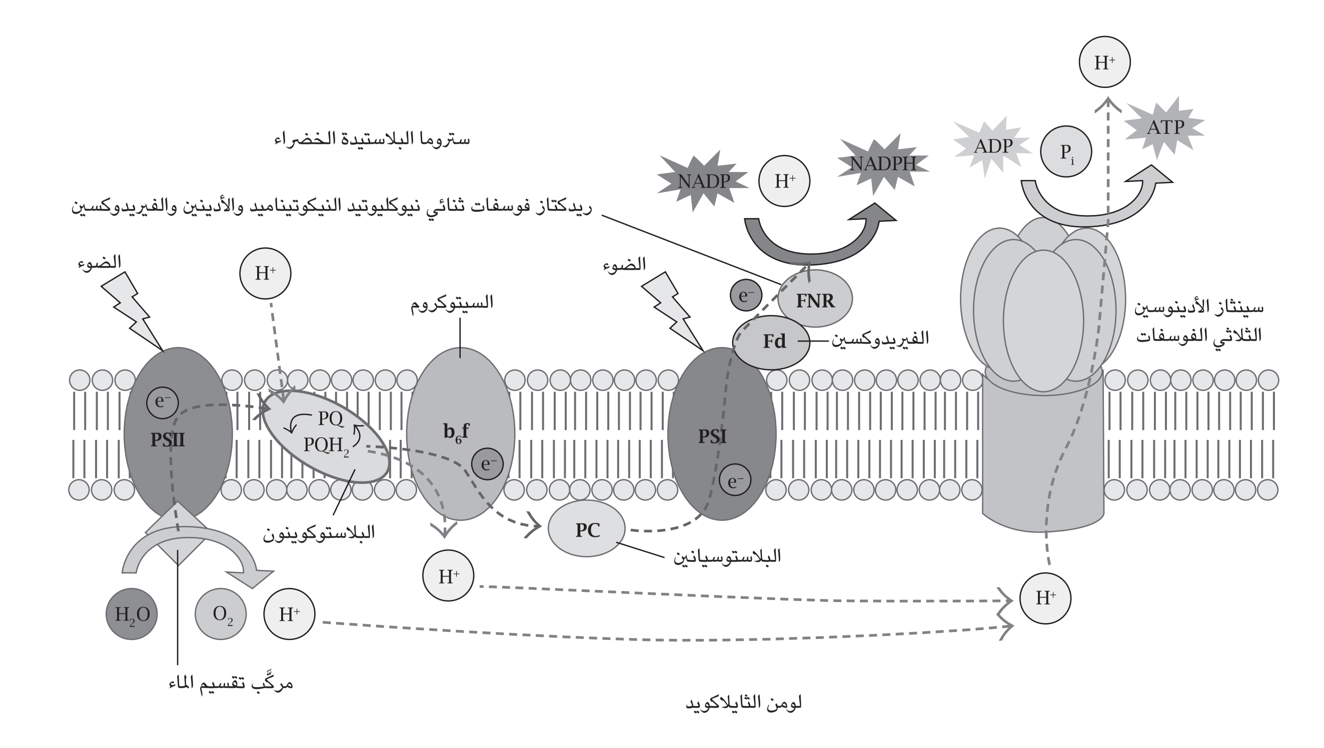
تفاعلات الضوء

بدأت الحياة على الأرض منذ ما يقرُب من ٣,٧ مليارات سنة، وقد استغرقت ١,٢ مليار سنة أخرى حتى طوَّرت البكتيريا الزرقاء الأولى عمليةَ بناء ضوئي تنتج الأكسجين. يُعتقد أن البلاستيدات الخضراء — وهي العضيات التي تحدُث فيها عمليةُ البناء الضوئي في النباتات والطحالب — مشتقة من بكتيريا زرقاء سالفة ابتلعتها إحدى حقيقيات النوى البدائية، مما أمدَّها بقدرة البناء الضوئي. ولا تزال آثار البكتيريا الزرقاء هذه ظاهرةً في بعض الجينات الكائنة في البلاستيدات الخضراء.

تنقسم البلاستيدة الخضراء إلى مقصورات محاطة بأغشية، يُطلق عليها الثايلاكويدات. وعلى حافة الثايلاكويد وبداخل الغشاء الليبيدي، يوجد مركَّبا بروتين يسمَّيان النظام الضوئي الأول (PSI) والنظام الضوئي الثاني (PSII). هذان هما مركَّبا جمْع الضوء السائدان على الأرض، ويصبح الدور الحاسم الذي يؤديانه في إمداد أنظمتنا البيئية بالطاقة واضحًا بنحوٍ لافت للنظر عندما تدرك أن المساحات الخضراء الواسعة على وجه الأرض المرئية من الفضاء يرجع وجودُها بنحو رئيسي إليهما.

سُمي النظام الضوئي الأول لأنه اكتُشف أولًا، لكن النظام الشمسي الثاني له دورٌ أسبق في عملية البناء الضوئي؛ ولذا سنبدأ من هناك. النظام الضوئي الثاني تكتلٌ ضخم مكوَّن من نحو عشرين وحدة فرعية بروتينية، ومائة عامل مرافق أو نحو ذلك بما في ذلك حوالي خمسة وثلاثين جزيئًا من الكلوروفيل، بالإضافة إلى أيونات معادن وليبيدات وصبغات أخرى متعددة.

تبدأ عملية البناء الضوئي بأن يصطدم فوتون ضوء بجزيء كلوروفيل واحد في النظام الضوئي الثاني (انظر الشكل ٥-١). طاقة ذلك الفوتون (ومن ثَم، طول الموجةِ واللونِ الخاصان به) بالغةُ الأهمية لما سيحدُث بعد ذلك، ويرجع السبب في ذلك إلى أن جزيئات الكلوروفيل تمتص اللونين البنفسجي والأزرق في أحد طرفَي الطيف الضوئي المرئي وتمتص اللونين الأحمر والبرتقالي في الطرَف الآخر. وهذه العملية تترك فجوةً كبيرة من الضوء الأخضر والأصفر في منتصف الطيف المنعكس، وهو ما يعطي النباتات اللونَ الأخضر. في ظاهر الأمر، تبدو هذه العملية غريبةً قليلًا؛ لأن انبعاث الشمس يبلغ ذروته في واقع الأمر ضمن نطاق اللونين الأخضر والأصفر، ومن ثَم ترفض النباتات كميةً كبيرة من الطاقة الشمسية. هذا، وليس واضحًا تمامًا السببُ في تطوُّر النباتات على هذا النحو.



شكل ٥-١: تفاعُل البناء الضوئي المعتمِد على الضوء الذي يحدُث في أغشية ثايلاكويدات البلاستيدات الخضراء.

قد تكون المسألة بسيطةً مثل حقيقة أن النباتات السوداء — التي تمتص كل الضوء من الطيف المرئي — ربما ترتفع درجة حرارتها.

بالعودة إلى عملية البناء الضوئي، لنفترض أن فوتونًا «أزرق» يضرب جزيء كلوروفيل، فإن امتصاص الفوتون يرفع إلكترونًا من الكلوروفيل إلى حالة طاقة أعلى. إذا كان الكلوروفيل في حالة انعزال، فسيعود الإلكترون ببساطة إلى حالته القاعية، ما يؤدي إلى انبعاث الطاقة في صورة ضوء أحمر. في النظام الضوئي الثاني، تُنظَّم مصفوفة الصبغات بدقة لالتقاط طاقة الضوء «الأحمر»، وتكون بمنزلة سلسلة من مستقبِلات الإلكترونات تنقلُ الإلكترونات المثارة عبر النظام الضوئي. انطلاقًا من هناك، تنتقل الإلكترونات عبر الغشاء عبر جزيء محب لليبيدات اسمه البلاستوكوينون، ثم إلى مركَّب البروتين التالي في تفاعُل الضوء الذي يسمَّى السيتوكروم b6f. لكن هذه العملية تترك النظامَ الضوئي الثاني مفتقرًا إلى أحد الإلكترونات. وتوفير الإلكترون تسهِّله منطقةٌ أخرى في النظام الضوئي الثاني تسمَّى مركَّب تقسيم الماء. كما يشير الاسم، فإن هذا المركَّب يستخلص الإلكترونات من الماء، مما يؤدي إلى تكوُّن أيونات الهيدروجين (البروتونات)، ومادة مهدرة وهي الأكسجين. ومن هذه الخطوة الكيميائية الحيوية، ينبعث الأكسجين في الغلاف الجوي.

ينقل السيتوكروم b6f الإلكترونات إلى المستقبِل القابل للذوبان في الماء المسمَّى البلاستوسيانين. وفي هذه العملية، يُضَخ بروتون عبر الغشاء إلى مساحة الثايلاكويد.

في الوقت نفسه، وبداخل مركَّب البروتين الآخر الجامع للضوء — النظام الضوئي الأول — تحدُث عملية مماثلة لتلك التي تحدُث في النظام الضوئي الثاني. هنا أيضًا، يثير الضوء الإلكترونات في الكلوروفيل، ولكن هذه المرة ينتقل الإلكترون إلى الفيريدوكسين، ثم ينتقل عبر الرابط النهائي في السلسلة إلى إنزيمٍ يسمَّى ريدكتاز فوسفات ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين والفيريدوكسين. يستخدم هذا الإنزيم الإلكترونات لإعادة شحن فوسفات ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المختزل، وهو عامل مرافق أساسي يُستخدم في عمليات الأيض في النبات، وبالتحديد في دورة كالفن، والتي فيها يُحوَّل ثاني أكسيد الكربون إلى جلوكوز. بعد اكتمال كلِّ هذه الخطوات، يُترك النظام الضوئي الأول أيضًا به إلكترونات مفقودة، ولكنه لا يتمكَّن من استخلاصها من الماء؛ بدلًا من ذلك، يستقبل الإلكترون الذي جرى إيداعه في البلاستوسيانين في مرحلة سابقة من العملية.

في الوقت نفسه، تتراكم البروتونات من مركَّب تقسيم الماء الخاص بالنظام الضوئي الثاني والسيتوكروم b6f داخل مساحة الثايلاكويد. تكون النتيجة ارتفاعَ

تركيز البروتونات داخل مساحة الثايلاكويد مقارنةً بخارجها. هذا التدرُّج البروتوني في الحقيقة مَخزن للطاقة الكامنة. ومثلما يتدفَّق الماء من أعلى عبر توربين لتحويل الطاقة الحركية الكامنة إلى كهرباء، تتدفَّق البروتونات عبر بروتين آخرَ يسمَّى سينثاز الأدينوسين الثلاثي الفوسفات (والذي حتى يدور مثل التوربين)، ما يتسبَّب في تحوُّل الأدينوسين الثنائي الفوسفات وأيون فوسفات (Pi) إلى الأدينوسين الثلاثي الفوسفات.

يمكن تلخيص هذه العملية المذهلة برُمَّتها — بما في ذلك مركَّبات البروتين الأربعة وعواملها المرافقة المتعددة — في مخطط تفاعُل واحد بسيط، وهو كالتالي:

$$2H_2O + 2NADP^+ + 3ADP + 3P_i \longrightarrow O_2 + 2NADPH + 3ATP$$

لعلكم لاحظتم أنه لا توجد أيُّ علامة على وجود ثاني أكسيد الكربون أو الكربوهيدرات حتى الآن. يرجع السبب إلى أن العملية الآنفة الذكر لا تشكِّل سوى ما يسمَّى بتفاعلات الضوء، التي تشكِّل نصف عملية البناء الضوئي. يرتبط النصف الثاني من العملية بتفاعلات الظلام. وفي الواقع، لا تحدُث تفاعلات الظلام، والتي يُطلق عليها أيضًا دورة كالفن، في الظلام. لكن الضوء ليس له دورٌ مباشر في التفاعلات، ومن هنا جاء الاسم المضلل قليلًا. في هذا الجزء من العملية، يُستخدم الأدينوسين الثلاثي الفوسفات، وفوسفات ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المختزل، اللذان كوَّنتهما تفاعلات الضوء لتحويل ثاني أكسيد الكربون إلى لِبنات بناء الكربوهيدرات.

تفاعلات الظلام

تقوم كل أشكال الحياة على الأرض على كيمياء الكربون؛ فكل البروتينات والليبيدات والأحماض النووية والهرمونات والكربوهيدرات مبنيةٌ على سِقَالة قائمة على الكربون. كذلك المصدر الأساسي للكربون في الغلاف الحيوي هو ثاني أكسيد الكربون، ولا يوجد سوى إنزيم واحد يقود عملية استخلاصه من الهواء وإدخاله في النظام البيئي. يسمَّى هذا الإنزيم كربوكسيلاز/أوكسيجيناز ريبولوز-١، ٥-ثنائي الفوسفات، ويُعرف اختصارًا باسم إنزيم روبيسكو، ويوجد بداخل البلاستيدات الخضراء في النباتات كما أنه محور الحياة. يخزِّن إنزيم روبيسكو الطاقةَ الكيميائية بداخل الإلكترونات العالية الطاقة في الروابط المستقرة بين ذرات الكربون في الكربوهيدرات. تبيِّن بعضُ الأرقام المذهلة مدى

أهمية هذا الإنزيم للحياة على الأرض. عادةً ما يكوِّن إنزيم روبيسكو نحو ٥٠ بالمائة من البروتين في ورقة النبات، وهذا يعني أنه ربما هناك ٤ × ١٠^١٠ كيلوجرامات من هذا الإنزيم منتشرة في العالم، وهذه الإنزيمات جملةً تثبِت ما يقرُب من ١٠٠ جيجا طن من الكربون كل عام، وهو ما يساوي خمسين ضعف كتلة البشر على الأرض.

لكن على الرغم من دور إنزيم روبيسكو الحيوي في النظام البيئي، فإنه غيرُ كفؤ باعتباره إنزيمًا. فليس بإمكانه معالجة سوى بضعة جزيئات من ثاني أكسيد الكربون في الثانية (قارن بينه وبين معدَّل دوران (k_{cat}) الكتالاز؛ إذ يعالج ما يقرُب من مليون جزيء في الثانية). لا يقتصر الأمر على ذلك، بل إنه كثيرًا ما يرتكب أخطاء؛ فهو معرَّض لأن يستخدم الأكسجين في صورة ركيزة بدلًا من ثاني أكسيد الكربون. وعندما يفعل ذلك، يؤدي ذلك إلى تكوُّن مركَّب سامٍّ يسمَّى ٢-فوسفوجليكولات، وحينها يضطر النبات إلى بذل مجهود كبير للتخلص منه. قد يرجع السببُ في عدم الكفاءة واللانوعية الشديدة لإنزيم روبيسكو إلى السقوط في فخ تطوري. فعندما ظهرت عمليةُ البناء الضوئي لأول مرة باعتبارها عمليةً حيوية، كانت مستويات الأكسجين في الجو منخفضة للغاية، ومن ثَم لم يكن هناك أيُّ ضغط تطوري بحيث يميز النبات بين ثاني أكسيد الكربون والأكسجين الجزيئي. باختصار، ما كان التفاعل الثانوي السام ليسبِّب مشكلة. لكن مع ارتفاع مستويات الأكسجين، بدأ تأثير التفاعل السام؛ فقد بدأت النباتات تفرز المزيدَ والمزيد من مركَّب ٢-فوسفوجليكولات، ومن ثَم سمَّمت نفسها. واستجابةً لذلك، كان على إنزيم روبيسكو أن يتطوَّر ليكون نوعيًّا أكثرَ لثاني أكسيد الكربون. يوجد بوجه عام ارتباطٌ عكسي بين نوعية الإنزيم وسرعته؛ لذا، عندما تطوَّر إنزيم روبيسكو للتمييز بين الغازين، تباطأ نشاطه التحفيزي بدوره. والآن، وبعد مئات الملايين من السنين، لا تزال النباتات الحديثة تتعامل مع نفاياتها «السامة»، ولكن التطوُّر قدَّم مقايضةً تتمثَّل في تقليل الكفاءة في مقابل زيادة النوعية.

إنزيم روبيسكو — مثل النظام الضوئي الأول والنظام الضوئي الثاني — هو مركَّب بروتين ضخم آخر، وفي النباتات هو يتركَّب من ثماني نسخٍ متطابقة من وحدة بروتينية فرعية كبيرة (مشفَّرة بالدي إن إيه الخاص بالبلاستيدات الخضراء)، وثماني نسخٍ متطابقة من وحدة فرعية أصغر (مشفَّرة بالدي إن إيه الخاص بالنواة)؛ ومعًا يكوِّن كلُّ هذا بنيةً تشبه الكرة تبلغ كتلتها الذرية ٥٤٠٠٠٠؛ أي أكبر تقريبًا بمقدار ١٢ ألف مرة من جزيئات ثاني أكسيد الكربون التي يستخلصها الإنزيم من الهواء. يتكوَّن

موقع ربط ثاني أكسيد الكربون الخاص بإنزيم روبيسكو من ثماني سلاسل جانبية ذات أحماض أمينية وأيون مغنيسيوم وظيفتهما تثبيت ثاني أكسيد الكربون مدةً طويلة بالقدْر الكافي، بحيث يضاف إلى مركَّب يتكوَّن من خمس ذرات كربون يسمَّى ريبولوز-١، ٥-ثنائي الفوسفات. وينتج عن هذا التفاعل مركَّب غير مستقر يتكوَّن من ست ذرات كربون، وهو ٣-كيتو-٢-كربوكسيارابينيتول-١، ٥-ثنائي الفوسفات، وهذا المركَّب يتفكك على نحوٍ شبه فوري ليخلِّف جزيئين بثلاث ذرات كربون من جليسيرات-٣-الفوسفات.

ببساطة، تتمثَّل وظيفة باقي تفاعلات الظلام في إعادة توليد ركيزة ريبولوز-١، ٥-ثنائي الفوسفات من أجل إنزيم روبيسكو. يحدُث هذا في عددٍ من الخطوات التي تشهد إدخالَ معظم إنتاج جليسيرات-٣-الفوسفات الخاص بإنزيم روبيسكو، بالإضافة إلى الأدينوسين الثلاثي الفوسفات، وفوسفات ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المختزل، اللذين يتشكَّلان في تفاعل الضوء، في دورة كالفن لإنتاج مركَّب ريبولوز-١، ٥-ثنائي الفوسفات جديد لإنزيم روبيسكو كي يتفاعل مرة أخرى مع جزيء آخر من جزيئات ثاني أكسيد الكربون. يعني القياس الكمي الكيميائي للدورة أنه من كل ستة من جزيئات جليسيرات-٣-الفوسفات (ثماني عشرة ذرة كربون) ينتجها إنزيم روبيسكو، فإنه يعاد استخدام خمسٍ منها في الدورة لإنتاج ثلاثة مركَّبات من ريبولوز-١، ٥-ثنائي الفوسفات (خمس عشرة ذرة كربون). وهذا يعني أنه من أجل تصنيع جزيء واحد إضافي من جليسيرات-٣-الفوسفات، فإن الدورة ينبغي أن تكتمل ثلاث مرات، وذلك على حساب تسعة جزيئات من الأدينوسين الثلاثي الفوسفات وستة جزيئات من فوسفات ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المختزل. ومن هنا فصاعدًا، تتباين عملياتُ الأيض بسرعة. يبقى قدْر من هذا الفائض الضئيل من جليسيرات-٣-الفوسفات في البلاستيدات الخضراء حيث يرتبط جزيئان لتكوين الجلوكوز. وقد ينتهي هذا الجلوكوز — بالإضافة إلى أشياء أخرى — في شكل مشتقات نيوكليوتيد أو يُخزَّن في صورة نشا. في الوقت نفسه، تُنقل جزيئات جليسيرات-٣-فوسفات الأخرى من البلاستيدات الخضراء وتتحوَّل إلى فركتوز-٦-فوسفات وسكروز، وغير ذلك الكثير.

يتمثَّل جوهر عملية البناء الضوئي في تحويل النباتات للضوء وثاني أكسيد الكربون إلى سكريات وكربوهيدرات. بعد ذلك، تستخدم الكائنات الأخرى — ومنها الإنسان — الطاقةَ الكيميائية المخزَّنة في هذه الكربوهيدرات، وفي تلك العملية تُطلِق ثاني أكسيد الكربون إلى الغلاف الجوي مرة أخرى.

تحلُّل الجلوكوز

في البداية، كان للأكسجين الناتج عن البكتيريا الزرقاء القادرة على القيام بعملية البناء الضوئي تأثير ضئيل في الغلاف الجوي؛ إذ تسبَّب معظم الأكسجين ببساطة في صدأ الحديد الموجود في القشرة الأرضية. لكن بعد ٢٠٠ مليون سنة، أصبح مصرف الأكسجين هذا مشبَّعًا، ونتيجة لذلك أحدثت الكيمياء الحيوية أولَ أكبرِ تأثير لها في جيولوجيا الأرض. ولما لم يكن هناك مكان آخر ينتقل إليه الأكسجين، تراكم في المحيطات والغلاف الجوي، ومن ثَم، غيَّرت الحياة كيمياء هواء الكوكب وبِحاره على حد سواء. وسرعان ما تكيَّفت الحياة مع هذه الظروف الجديدة، ومن ثَم انتشرت الكائنات الحية التي اعتمدت على الأكسجين الناتج عن عملية البناء الضوئي، وذلك في غضون ٦٠٠ مليون سنة أخرى. أدَّت القدرة على استخدام الأكسجين إلى انتشار الكائنات الحية المتعددة الخلايا على الأرض. وقبل هذا، كانت قد تمكَّنت الحياة من البقاء — بأشكال بسيطة نسبيًّا — من دون الأكسجين مدة ملياري سنة تقريبًا.

وبشأن بقايا العملية الكيميائية الحيوية التي قيَّدت الحياة على الأرض التي سبقت انتشار الأكسجين فيها، فإنها لا تزال تشكِّل بدايةَ مسار الأيض الذي يحوِّل الجلوكوز إلى عملة الطاقة الكيميائية في الخلية الممثَّلة في الأدينوسين الثلاثي الفوسفات. تسمَّى هذه العملية بتحلل الجلوكوز، وهي عبارة عن مسارٍ مكوَّن من عشر خطوات، كل مرحلة فيها يحفِّزها بروتين معيَّن. وينتج عن تحلُّل الجلوكوز جزيئان من الأدينوسين الثلاثي الفوسفات وجزيئان من ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المختزل وجزيء من البيروفات. لا يمثل الأدينوسين الثلاثي الفوسفات سوى جزء من الطاقة الكامنة المحتجزة في الجلوكوز (إذ لا يزال معظمها محتجَزًا في البيروفات)، ولكن في غياب الأكسجين، لا تستطيع الخلية أن تفعل الكثيرَ سوى إعادة توليد جزيء ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المؤكسد الذي يدخل مرةً أخرى في مسار تحلُّل الجلوكوز. تنفِّذ الحيوانات وبعض البكتيريا (مثل المكورة اللبنية، وهي الكائنات الدقيقة التي سبق ذكرُها في بداية الكتاب) ذلك بتحويل البيروفات إلى لاكتات عبر إنزيم نازع هيدروجين اللاكتات. وفي الوقت نفسه، تضيف الخميرة خطوتين في نهاية مسار تحلُّل الجلوكوز ما يؤدي إلى عملية تخمُّر الإيثانول. تتكوَّن هذه العملية من تحويل البيروفات إلى أسيتالدهيد وثاني أكسيد الكربون (ومن هنا تظهر الفقاقيع في الجِعَة)، ثم يأتي عمل إنزيم يسمَّى نازع هيدروجين الكحول الذي يحفِّز تكوين الإيثانول من الأسيتالدهيد.

يظهر إنزيم نازع هيدروجين الإيثانول أيضًا في الكائنات الحية التي لا تخمِّر الإيثانول، ومنها البشَر. إن الهدف منه في هذه الحالات تصادف أنه يوضح سِمة مثيرة للاهتمام للإنزيمات، وهي إمكانية عملها في الاتجاهين معًا. في الخميرة، يحوِّل الإنزيم الأسيتالدهيد إلى إيثانول، ولكن عندما نحتسي الكحول، فإن نسخةً مماثلة من الإنزيم تحوِّل الإيثانول إلى أسيتالدهيد. (إن الأسيتالدهيد هذا الذي درجة السُّمية فيه أعلى من الإيثانول هو ما يؤدي إلى آثارِ السكَّر السيئة.)

يتطلَّب الوصول إلى باقي الطاقة من الجلوكوز إلى عامل أكسدة. قبل تراكم الأكسجين في الغلاف الجوي، لم تكن هناك مادةٌ كيميائية متوافرة لتنجز هذه المهمة. ومثلما لم تكن هناك نيرانٌ من دون أكسجين حر في الغلاف الجوي، لم يكن أيضًا بمقدور الكائنات الحية أن «تحرق» الجلوكوز بالكامل. ومن ثَم اقتصرت الحياة على الكائنات الحية الأحادية الخلية البسيطة. لكن كل هذا تغيَّر عقبَ ما يسمَّى بحدث الأكسجة العظيم، ومع تزايد مستويات الأكسجين رويدًا رويدًا تطوَّرت كيمياء حيوية جديدة كي تستفيد من الفرص الكيميائية التي توفِّرها القدرة التفاعلية للأكسجين.

آخر الخطوات اللاهوائية غير الفعَّالة حلَّ محلَّها عملية دقيقة تحدُث بالكامل في محطة الطاقة الخاصة بالخلايا وهي الميتوكوندريا. توجد هذه العضيات المحاطة بالأغشية في حقيقيات النوى، وهي شأنها شأن البلاستيدات الخضراء نشأت من البكتيريا الحرة، وهي متخصصة في الكيمياء الحيوية لاستخلاص الطاقة الكامنة من الكربوهيدرات (والدهون، ولكننا لن نستكشف هذه المسارات هنا من أجل الإيجاز). وأغشية الميتوكوندريا ليست مجرَّد وسائل لاحتواء التفاعلات، بل إن لها أدوارًا حيوية في العملية برُمَّتها، وذلك كما سنرى. في الحقيقة، يلزم توافر مساحات كبيرة من الأغشية، ما يؤدي إلى ظهور أغشية ميتوكوندريا داخلية ذات تجاعيد وطيات كثيرة. وهذه الأغشية بدروها يجرى تضمينها في غشاء ميتوكوندريا خارجي أملس. الغشاء الخارجي قابلٌ للنفاذ بالكامل من قِبل نواتج الأيض، ومن ثَم فإنه يُثبت فقط الغشاء الداخلي في مكانه. لكن الغشاء الداخلي يمتاز بدرجةٍ انتقائية أكبرَ بكثير. وذلك ينشئ التحدي الأول المتمثِّل في أن تحلل الجلوكوز يحدث بداخل العصارة الخلوية (وهي جزء يوجد داخل الخلية، ولكن خارج العضيات) للخلية، ومن ثَم قبل أن يكون بالإمكان حدوثُ أي تدخُّل، تحتاج البيروفات إلى أن تُنقل إلى الميتوكوندريا. وقد اتضح هذا منذ اللحظة التي صار فيها دور الميتوكوندريا واضحًا. وعلى الرغم من ذلك، استغرق الأمر أربعين سنة من البحث قبل (في عام ٢٠١٢) تحديد حاملات بيروفات الميتوكوندريا في النهاية.

بمجرد أن تمكَّنت البيروفات من الدخول إلى الميتوكوندريا، يبدأ جديًّا استخلاص الطاقة الكيميائية المتبقية من الجلوكوز. أولًا، يتحوَّل البيروفات إلى أسيتيل مرافق الإنزيم A. يُغذى هذا في مخطَّط تفاعل دائري يُعرف باسم دورة حمض الستريك (أو دورة كريبس نسبةً إلى هانس أدولف كريبس الذي اكتشفها هو ويليام آرثر جونسون عام ١٩٣٧). وبداخل هذه الدورة، يرتبط أسيتيل مرافق الإنزيم A بالأوكسالوأسيتات لتكوين السترات. تكتمل الدورة بسبع خطوات أخرى (بحيث تكون ثماني خطوات في المجمل) وتعيد إنتاج الأوكسالوأسيتات الجاهز لدورة أخرى. في تلك العملية، يتفكَّك البيروفات إلى ثاني أكسيد الكربون وماء. النواتج الكيميائية الحيوية لكل هذا في دورة واحدة هي أربعة، وهي ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المختزل وثنائي نيوكليوتيد الفلافين والأدينين المختزل، وأربعة بروتونات وجزيء جوانين ثلاثي الفوسفات (والذي له وظيفة شبيهة بوظيفة الأدينوسين الثلاثي الفوسفات). يُحتجز كل هذا داخل مصفوفة الميتوكوندريا، وبسبب ما سيحدث بعد ذلك، لا تقلُّ أهمية هذا الموقع عن أهمية الجزيئات نفسها.

ترتبط المرحلة النهائية من العملية بنظرية التناضح الكمي لبيتر ميتشل. في عام ١٩٦١، وصف ميتشل الآلية الجوهرية لتحويل الطاقة في الكيمياء الحيوية (على الرغم من أنها كانت مثيرة للجدل بشدة حينذاك لأنها تتعارض مع النظريات السائدة وقتها). تنص النظرية في الأساس على أن الطاقة المحتجَزة تُستخدم لنقل البروتونات عبر الغشاء (وقد تطرَّقنا إلى هذا الموضوع عندما تناولنا تفاعلات الظلام في البناء الضوئي). ويولِّد هذا تركيزًا عاليًا من البروتونات على جانبٍ من الغشاء، وتركيزًا منخفضًا في الجانب الآخر. حركة البروتونات العكسية عبر الغشاء من خلال مركَّب الأتباز تحفِّز تكوين الأدينوسين الثلاثي الفوسفات. وهنا تكمُن أهميةُ الغشاء الشديدة؛ حيث إنه يشكِّل الحاجز بين التركيزات العالية والمنخفضة للبروتونات.

مكوِّن آخر يربط دورةَ السترات وإنزيم الأتباز، وهو البروتينات في مركَّب نقل الإلكترونات. هذه البروتينات تقبل الإلكترونات التي يحملها ثنائي نيوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين المختزل وثنائي نيوكليوتيد الفلافين والأدينين المختزل. تكون الإلكترونات في حالة طاقة عالية، وتتحكَّم البروتينات في تقليل حالات طاقاتها. وبينما تفعل ذلك، فإنها توجِّه تلك الطاقة لضخ البروتونات عبر الغشاء الداخلي وخارج مصفوفة الميتوكوندريا. وهذا يولِّد القوةَ الدافعة للبروتونات والتي تُستخدم لدفع إنزيم الأتباز وإنتاج الأدينوسين الثلاثي

الفوسفات. تُنتِج الميتوكوندريا الهوائية مجتمعةً صافي اثنين وثلاثين جزيئًا من الأدينوسين الثلاثي الفوسفات (عند مراعاة تكلفة النقل) من جزيء الجلوكوز، وهو تحسُّن كبير مقارنةً بجزيئي الأدينوسين الثلاثي الفوسفات الناتجين من عملية تحلُّل الجلوكوز.

بدأتُ هذا القسم بذكرِ أهمية الأكسجين. لكن لن تفوتكم ملاحظة أنه حتى الآن لم يظهر في أيٍّ من التفاعلات. في الحقيقة، دوره بسيط لدرجةِ أنه يسهُل تجاهله، وسط تعقيد الدورات والناقلات وغير ذلك. في مركَّب نقل الإلكترونات الأخير، تحتاج الإلكترونات إلى مكانٍ تذهب إليه، وإلا فسيحدث تراكمٌ في السلسلة وتتوقَّف محطة طاقة الميتوكوندريا بالكاملً عن العمل. إن الأكسجين يكون بمنزلة مستقبِل الإلكترونات النهائي هذا، وكهربائيته السالبة تجعله مثاليًّا لهذه المهمة، وبما أنه من مصدرٍ خارجي للكائن الحي ومتوافر بكثرة في الغلاف الجوي، فإنه يوجد قدْر كبير وجاهز منه. ومن ثَم فإن التفاعل النهائي في التعقيد المتمثِّل في تنفُّس الهواء بسيط للغاية؛ يتَّحد جزيء أكسجين (O_2) بالإضافة إلى أربعة إلكترونات وبروتونين لتكوين جزيئين من الماء.

الفصل السادس

تصنيع الدي إن إيه وصيانته

تضاعُف الدي إن إيه

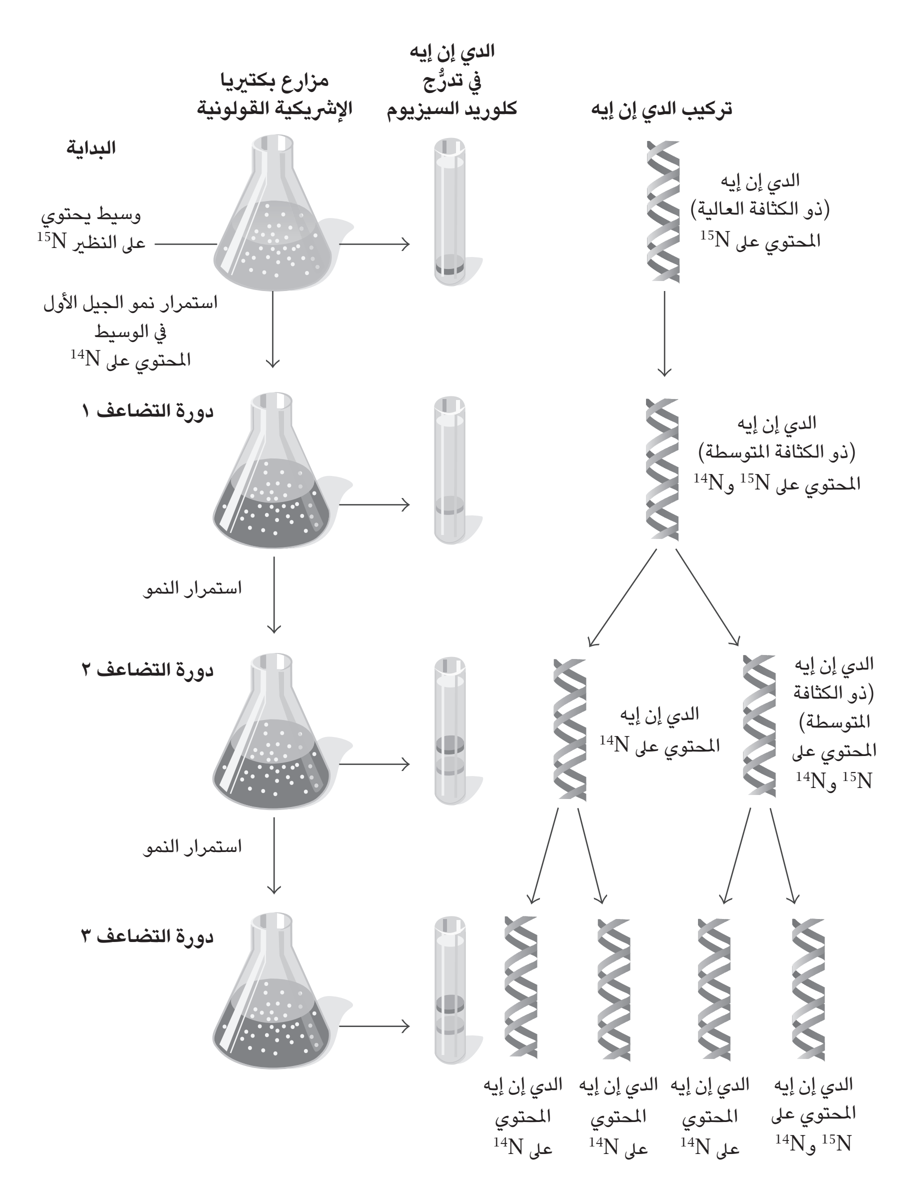
بعد استنتاج بنية الدي إن إيه، قال واتسون وكريك: «لم يغِب عنَّا أن الاقتران المحدَّد الذي افترضناه يشير من فوره إلى آلية نسخٍ محتملة للمادة الوراثية.» لقد كانا يلمِّحان إلى ملاحظتهما بأن اللولب المزدوج يمكن فصلُه إلى شريطين فرديين، يكون كل شريط منهما بمنزلة قالب يمكن أن تتجمَّع عليه أشرطة جديدة. هذه العبارة البسيطة لا يمكنها حتى التعبير ولو قليلًا عن مدى جسامة المهمة التي يكون على الكائنات الحية القيام بها، وهي تَضاعف الدي إن إيه الخاص بها بالكامل بسرعة ودقة. لكن ربما يحدُث ذلك لو عرضنا بعض الحسابات التقريبية:

> المسافة بين أزواج القواعد في الدي إن إيه تساوي ٠٫٣٤ نانومتر. ويتكوَّن جينوم الإنسان من حوالي ثلاثة مليارات زوج قاعدة، ومن ثَم تحتوي كلُّ خلية على حوالي متر واحد من الدي إن إيه الثنائي الأشرطة. يقدَّر أن جسم الإنسان يتكوَّن من نحو ٣٧ تريليون خلية، وهو ما يعني أن هناك ٣٧ مليار كيلومتر إجمالًا من الدي إن إيه داخل جسمك، وهذا يكفي أن يمتد من الشمس حتى كوكب نبتون ذهابًا وإيابًا أربع مرات. وإذا لم يكن هذا مثيرًا للاهتمام بالقدْر الكافي، فإن الخلية تتكاثر ٣٠٠ مرة في المتوسط، ومن ثَم يصبح الطول الإجمالي الذي يُصنع على مدى حياة الإنسان من الدي إن إيه أكثرَ من ١١ تريليون كيلومتر. وإذا تمكَّنت من فردِ هذا على خط طويل، فسيستغرق الضوء ١٤ شهرًا كي يقطع المسافةَ من طرَف إلى الآخر. بعبارة أخرى، قبل أن تموت سيصنع جسمُك على الأرجح دي إن إيه يزيد طولُه على مسافة سنة ضوئية!

الأعجب في هذا كله أن الكيمياء الحيوية في جسم الإنسان تستطيع صنْع كل الدي إن إيه هذا بدقةٍ مذهلة. ومعدَّل الخطأ بوجه عام هو فقط خطأ واحد لكل مليار زوج قاعدة. وهذا يعادل كتابةَ نُسخٍ من أعمال شكسبير الكاملة بمعدل خطأ مطبعي واحد فقط في كل ألفي نسخة.

قبل تناول الأمثلة الرائعة على الآلة الجزيئية التي تجعل كلَّ هذا ممكنًا، حريٌّ بنا دراسة الآلية التي كان يشير إليها واتسون وكريك. فقد أشارا إلى أن اللولب المزدوج في الدي إن إيه يسهُل فصله إلى شريطين، بحيث يصبح كل شريط منهما بمنزلة قالب لتصنيع شريط تكميلي جديد. عُرف هذا باسم التضاعف شبه المحافظ، إشارةً إلى أن كل لولب مزدوج فرعي من الدي إن إيه احتوى على شريط واحد جديد، وشريط آخر قديم احتُفظ به من الجزيء الأصلي.

اضطُر الدليل على ذلك أن ينتظر خمس سنوات بعد نشرِ بنية اللولب المزدوج التي توصَّل إليها واتسون وكريك؛ إذ انتظر تصميمَ تجربة رائعة على يد كلٍّ من ماثيو مسيلسون وفرانكلين ستال (انظر الشكل ٦-١). فقد أنميا بكتيريا في وسيطٍ يحتوي على نظير ثقيل من النيتروجين (^{15}N). أدمجت البكتيريا هذا النظير في الدي إن إيه الخاص بها. عندئذٍ، حوَّل مسيلسون وستال وسيط النمو إلى نيتروجين أخف (^{14}N)، وتركا البكتيريا تنمو مدة جيل واحد فقط. وعندما استخرجا الدي إن إيه من هذه البكتيريا وتحقَّقا من كثافته، وجدا أنها تقع في المنتصف تمامًا بين تلك الخاصة بالدي إن إيه النقي المحتوي على ^{15}N، وذلك المحتوي على ^{14}N. كانت هذه إشارة على أن كل شريط من اللولب المزدوج احتوى على نسبة ٥٠ : ٥٠ من الدي إن إيه القديم والجديد. لكن هذا لم يثبِت حدوثَ عملية تضاعُف شبه محافظ وليس تضاعفًا مبعثرًا، الذي من خلاله سيحتوي كل شريط فرعي على مزيج من الدي إن إيه القديم والجديد؛ إذ كلاهما كانا سيؤديان إلى هذه النتيجة. ولذا، ترك مسيلسون وستال البكتيريا تنمو مدة جيل آخر في وسيط ^{14}N. أدَّت هذه التجربة إلى مجموعتين من الدي إن إيه الثنائي الأشرطة: مجموعة تحتوي على دي إن إيه بشريطين محتويين على ^{15}N (شريط من الدي إن إيه المضاعَف حديثًا وشريط من الدي إن إيه الأصلي)، ومجموعة أخرى تحتوي على مزيج من الدي إن إيه المحتوي على ^{15}N (من الدي إن إيه الأصلي)، وشريط من الدي إن إيه المحتوي على ^{15}N المضاعَف حديثًا. الطريقة الوحيدة لحدوث ذلك هو بقاء كل شريط من الدي إن إيه كما هو في أثناء عملية التضاعف ونقله إلى الجيل التالي، مما يثبت حدوث التضاعف شبه المحافظ.



شكل ٦-١: تجربة مسيلسون وستال التي أثبتت التضاعفَ شبه المحافظ للدي إن إيه.

المفهوم الذي يقف وراء التضاعف شبه المحافظ بسيطٌ للغاية؛ فكل ما يتطلبه هو انفصال شريطَي اللولب المزدوج في الدي إن إيه ونسخ الشريطين الفرديين الناتجين. لكن الآلية المتَّبعة في هذا الشأن أعقدُ بكثير. فهذا العمل الفذُّ تنسِّقه مجموعةٌ تصل إلى عشرين بروتينًا، وتعمل بطريقة متآزرة، ويطلق عليها مجتمعةً جسيم التضاعُف أو الريبليسوم. لكن هذه العملية في حقيقيات النوى وبدائيات النوى مختلِفة بعضَ الشيء، وتوضيحًا لتلك الآلية، سنتناول فقط النظامَ الأبسط الخاص بإحدى بدائيات النوى، وهي بكتيريا الإشريكية القولونية.

جينوم البكتيريا دائريُّ الشكل؛ لذا فإن الخطوة الأولى هي تحديدُ نقطة البداية في هذه الحلقة. وهذا يحدُث في تسلسل معيَّن من الدي إن إيه يسمَّى أصل التضاعف. ترتبط قُرابة عشرين نسخة من بروتين يسمَّى DnaA بتلك المنطقة، ومعًا تفصل الشريطين بعضهما عن بعض، ما يؤدي إلى تكوُّن حلقة من الدي إن إيه الأحادي الأشرطة، وإحاطتها بقسمين من اللولب المزدوج. إن قدرات البروتين DnaA محدودة؛ فكلُّ ما يفعله هو الإبقاء على هذه المنطقة مفتوحة، ولا يستطيع تعميم هذا الفتح. أما وظيفة فك باقي الدي إن إيه فتئول إلى إنزيم هيليكاز يسمَّى DnaB. يرتبط هذا الإنزيم بالدي إن إيه الأحادي الأشرطة الذي أنشأه البروتين DnaA، ثم يشقُّ طريقه — مدعومًا بالأدينوسين الثلاثي الفوسفات — عبر الشريط الأحادي بحيث يبثقه من خلال مركز بنيته التي تشبه البرميل. ونتيجةً لذلك، يُدفع الشريط التكميلي إلى خارج البرميل، ومن ثَم يصبح الإنزيم DnaB بمنزلة إسفين يحشر نفسه بين الشريطين. وفي أعقاب ذلك، ترتبط بروتينات ربط الدي إن إيه الأحادي الأشرطة بالدي إن إيه المنفصل حديثًا، ما يضمن عدمَ إعادة ارتباط شريطيه معًا مرة أخرى. هناك شيء ينبغي أن يحدُث قبل بدء عملية النَّسخ الفعلي. إذ ينشئ إنزيم آخر — بريماز الآر إن إيه — أجزاءً صغيرة من الآر إن إيه التكميلي، ومن هذه الأجزاء، يبدأ إنزيم بوليميراز الدي إن إيه في إنشاء أشرطة الدي إن إيه الجديدة.

في الحقيقة، توجد على الأقل خمسة إنزيمات بوليميراز دي إن إيه في بكتيريا الإشريكية القولونية، التي يشترك ثلاثة منها في عملية التضاعف العادية. إنزيم بوليميراز الدي إن إيه الثالث (Pol III)، الذي هو عبارة عن مركَّب ضخم يتكوَّن من سبع عشرة وحدة فرعية، لديه القدرة على العمل مع ألف نيوكليوتيدة تقريبًا في الثانية، ومن ثَم يقوم بنصيب الأسد من العمل. أما إنزيما بوليميراز الدي إن إيه الأول (Pol I) والثاني (Pol II) فأصغر بكثير، ولهما وحدة فرعية واحدة. يناط بإنزيم البوليميراز الثاني إصلاح التلف

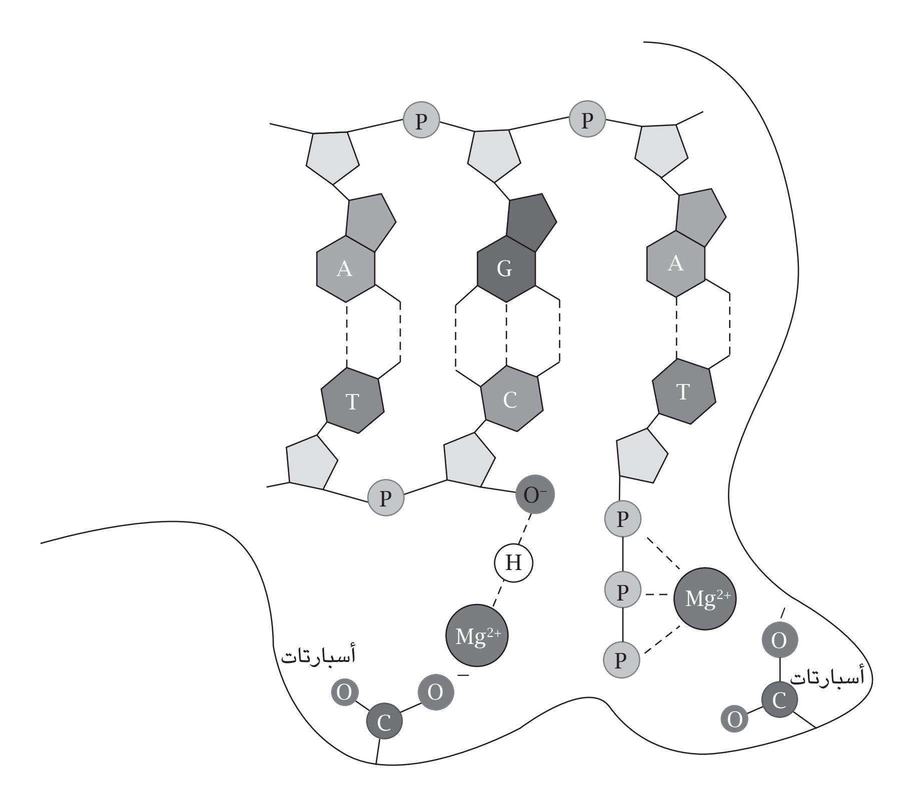
والعمل بمنزلة إنزيم بوليميراز احتياطي. وفي نفس الوقت، يبدِّل إنزيم البوليميراز الأول بادئات الآر إن إيه، ويضع مكانها الدي إن إيه، كذا له دورٌ في تصحيح الأخطاء. لكن إنزيمي البوليميراز الرابع (Pol IV) والخامس (Pol V) لا يتدخَّلان إلا إذا حدثت مشكلة مع إنزيمات بوليميراز التضاعف. كذلك قد يؤدي حدوث تلفٍ في الدي إن إيه إلى مناطقَ تالفة تشبه انبعاج خطوط السكك الحديدية، وحينئذٍ يتوقَّف إنزيم البوليميراز الثالث عند شوكة التضاعف. عندئذٍ يتدخَّل إنزيما البوليميراز الرابع والخامس لإصلاح العيب وإرجاع قطار إنزيم البوليميراز الثالث إلى مساره.

من حيث الجوهر، تحفِّز كلُّ إنزيمات البوليميراز هذه التفاعلَ نفسه، المتمثِّل في إضافة نيوكليوتيدة منقوصة الأكسجين (النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين – dNTP) إلى الطرَف ٣′ من الحمض النووي (سواء الدي إن إيه أو الآر إن إيه). يحتاج العديد من المكوِّنات إلى الارتباط معًا داخل الموقع النشط لإنزيم البوليميراز حتى يتحقَّق ذلك: الدي إن إيه القالب، والطرَف ٣′ للحمض النووي، ونيوكليوتيدة ثلاثية الفوسفات منقوصة الأكسجين حرة، واثنين من أيونات المغنيسيوم.

تُكوِّن أيونات المغنيسيوم الموجبة تفاعلاتٍ إلكتروستاتية مع مجموعات الفوسفات في النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين والسلاسل الجانبية للأسبارتات داخل الموقع النشط للإنزيم (انظر الشكل ٦-٢). وهذا يساعد على استقرار اقتران قواعد النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين مع الدي إن إيه القالب. ويساعد أحد أيونات المغنيسيوم أيضًا في نزع بروتون $3'-OH$، الذي يمكن أن يشكِّل بعد ذلك رابطةً تساهمية مع مجموعة الفوسفات الأولى في النيوكليوتيدة. وفي تلك العملية، تتحرَّر مجموعتا الفوسفات الباقيتان وينتقل إنزيم البوليميراز إلى القاعدة التالية في الدي إن إيه القالب.

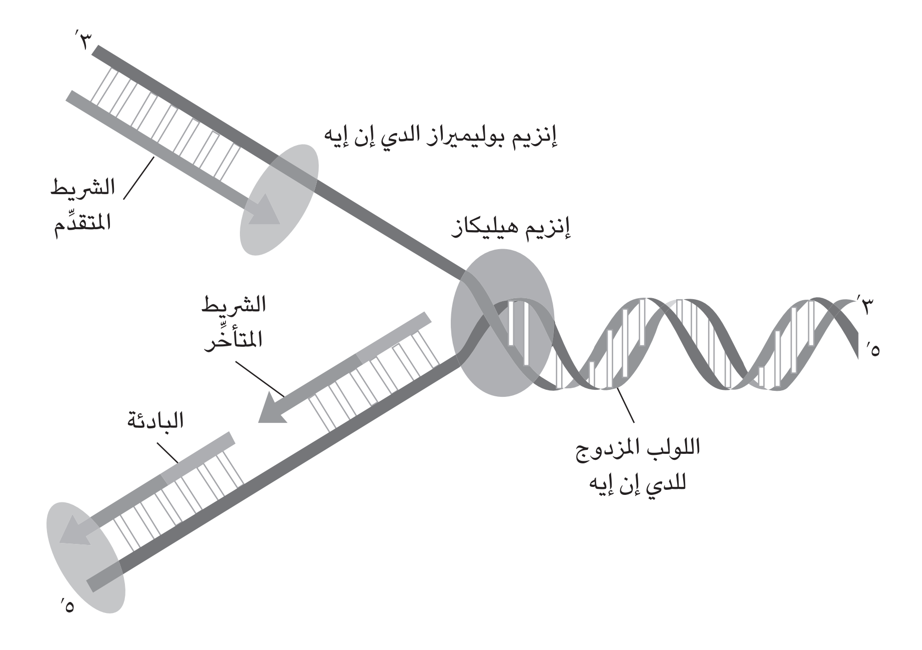
إنزيمات بوليميراز الدي إن إيه إنزيماتٌ غير عادية من عدة نواحٍ، فموقعها النشط يمكن أن يستوعب أربع مواد متفاعلة منفصلة، ونقصد بذلك أيًّا من أزواج القواعد الصحيحة وهي C–G وG–C وA–T وT–A. ليس هذا فحسب، بل تُستبعد عمليات الاقتران غير الصحيحة هندسيًّا من الموقع النشط، ما يقلِّل بنحو كبير من فرصِ عدم التطابق في الدي إن إيه الناتج.

عند هذه النقطة تتعقَّد الأمور؛ لأن إنزيم بوليميراز الدي إن إيه له تقييد خطِر. إنه لا يستطيع التحرُّك إلا في اتجاه واحد (من الطرَف ٥′ إلى الطرَف ٣′) بطول الشريط. بالنسبة إلى الشريط الأول (المتقدِّم)، هذه ليست مشكلة؛ حيث يبدأ إنزيم البوليميراز من



شكل ٦-٢: الموقع النشط لإنزيم بوليميراز الدي إن إيه.

بادئة الآر إن إيه الخاصة به، ثم يتبع شوكة التضاعف الدائمة الحركة التي يولِّدها إنزيم الهيليكاز، ما يؤدي إلى ظهور شريط تكميلي واحد متصل من الدي إن إيه أثناء تقدُّمه. في نفس الوقت، في الشريط الآخر (المتأخِّر)، فإنَّ بادئة الآر إن إيه يولِّدها — بنحو متقطِّع — إنزيم بريماز آر إن إيه مرتبط بالجزء الخلفي من إنزيم الهيليكاز. يبدأ إنزيم بوليميراز الدي إن إيه عند هذه البادئات ويتحرَّك بعيدًا عن شوكة التضاعف حتى يصادف الطرَف الخلفي لشظيةٍ سبق تكوينها. عندئذٍ، ينفصل إنزيم البوليميراز ويرتبط مرةً أخرى عند شوكة التضاعف (انظر الشكل ٦-٣). ينتج عن هذه الآلية المعقَّدة في ظاهرها سلسلةٌ من القِطَع غير المترابطة (تسمَّى شظايا أوكازاكي) تكون بحاجة إلى ربطِها بعضها ببعض عبر إنزيم آخرَ يسمَّى إنزيم ليجاز الدي إن إيه.



شكل ٦-٣: شوكة تضاعُف الدي إن إيه. إنزيم هيليكاز يفكِّك اللولب المزدوج، في حين تنشئ إنزيمات بوليميراز الدي إن إيه أشرطةً جديدة من الدي إن إيه. في الشريط المتقدِّم، تنجَز هذه المهمة على نحوٍ متصل، ولكنها تتم على نحوٍ متقطع في الشريط المتأخِّر.

بالإضافة إلى إنزيمات البوليميراز والهيليكاز والليجاز وغيرها، فإنه توجد بروتينات أخرى أكثر داخل جسيم التضاعف تقوم بوظائفَ مثل تشبيك إنزيمات البوليميراز بالدي إن إيه، وحتى البنيات التي تُحمِّل المشابك في إنزيمات البوليميراز. لن أتطرَّق إلى تفاصيل هذه البروتينات، ولكني أود أن أضع بين يدي القارئ بروتينًا آخرَ في جسيم التضاعف، ولا يوجد سببٌ في رغبتي تلك سوى أنني اكتشفت قدرتَه على التعامل مع عدة أشرطة من الدي إن إيه بطريقة رائعة. يسمَّى هذا الإنزيم جايريز الدي إن إيه، ووظيفته يمكن توضيحها على الوجه الأكمل من خلال مثال توضيحي.

إذا شُدَّ شريط مطاطي أو حلقة خيط طويلة بين إصبعين ثم لُفَّت بحيث تتكون فيها خمس أو ست لفات، فإن الجزء الملتف يكاد يشبه امتدادَ الدي إن إيه ذي اللولب المزدوج. وإذا أُدخل إصبع الإبهام داخل الحلقة وحُرك باتجاه أحد الطرفين بحيث يدفع

الجزء الملفوف مع حركته، فإن إصبع الإبهام يفعل الوظيفة التي يفعلها إنزيم الهيليكاز بالضبط؛ إذ يترك من خلفه أقسامًا أحادية الأشرطة. لكن لا يخفى أن الإصبع لا يفكِّك اللفات، بل يضغطها معًا فقط، بحيث يكوِّن لفاتٍ أكبر وتوترًا عبر الشريط. يؤدي إنزيم الهيليكاز إلى النتيجة نفسها في الدي إن إيه وينفك هذا التوتر بإنزيم جايريز الدي إن إيه. ولإنجاز هذه المهمة، يُحدِث إنزيم جايريز الدي إن إيه قَطعًا في اللولب المزدوج، ويرتبط بجزء آخر من الدي إن إيه، ثم يمرِّر هذا الجزء عبر الفجوة. في النهاية، يصلِح القَطْع ويترُك الدي إن إيه سليمًا دون لفات. ثم يكرر هذه العملية مرارًا وتكرارًا ويبقى طوال الوقت متقدِّمًا على إنزيم هيليكاز الدي إن إيه.

الدِّقة العالية

ذكرتُ من قبلُ أن تضاعُف الدي إن إيه يَحدُث بدقةٍ عالية مثيرة للدهشة، بحيث يقع خطأ واحد كل ١٠ مليارات قاعدة أو نحو ذلك. لكن إنزيمات بوليميراز الدي إن إيه وحدَها لا تتمتَّع بدقة شديدة. فهي تقع في خطأ واحد كل ١٠٠ ألف نيوكليوتيدة أو نحو ذلك، ولذلك تُوجد عملية تصحيح أخطاء في كل مركَّب إنزيم بوليميراز ثالث.

تؤدي كل نيوكليوتيدة مدرَجة بطريقةٍ غير صحيحة إلى تشوُّه في الدي إن إيه، وبإمكان البروتين اكتشاف هذا الخلل التكويني الطفيف. وعندما يقوم بذلك، يتوقَّف إنزيم البوليميراز ويتَّجه إلى الاتجاه المعاكس. عندئذٍ، يحول طرَف السلسلة الجديدة إلى موقع نشط ثانٍ. وهناك، يقتطع إنزيم إكسونيوكلياز النيوكليوتيدة غير الصحيحة. ثم يُعاد الشريطان إلى منطقة إنزيم البوليميراز ويتحرَّك مركَّب الإنزيم بالكامل إلى الأمام مرة أخرى. يقلِّل هذا القدْر البسيط من التحرير من معدَّل الخطأ على نحوٍ كبير، بحيث يقلُّ إلى حوالي واحد في كل عشرة ملايين زوج قاعدة، لكن هذا لا يزال غيرَ كافٍ للحفاظ على سلامة الجينوم.

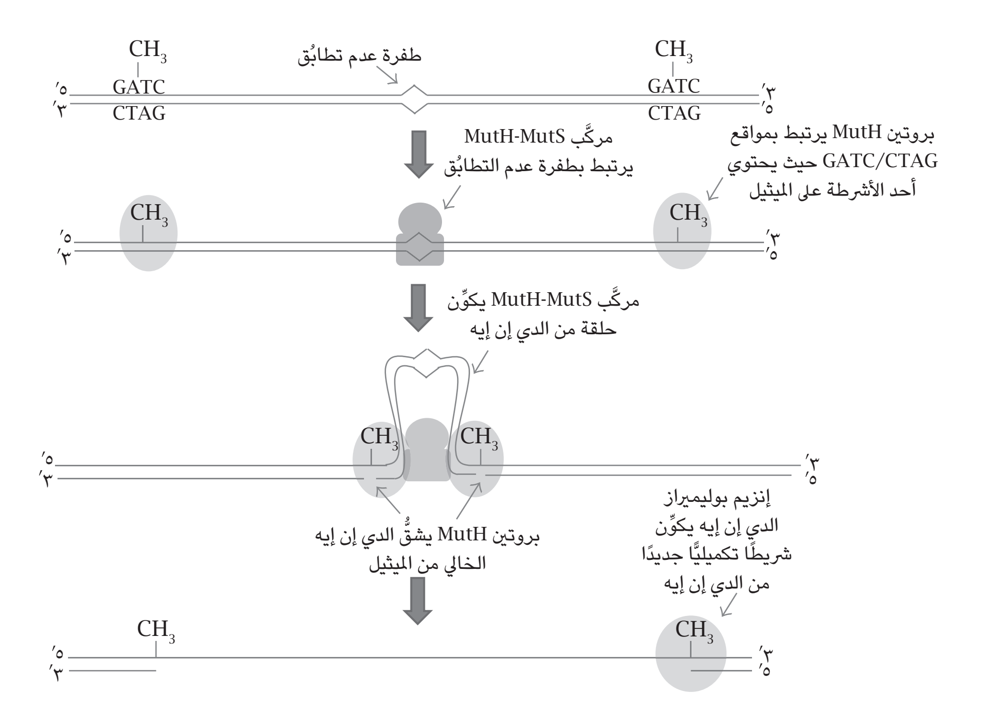
تحدُث عملية تدقيق أخرى أيضًا بعد التضاعُف بفترة وجيزة. لكن تزيد بشدة صعوبةُ اكتشاف الأخطاء في هذه المرحلة. فعندما يحدُث عدمُ تطابق في أثناء التضاعف، فإن القالب يكون تحت تصرُّف إنزيم بوليميراز الدي إن إيه، ومن ثَم «يعرف» أين يكمُن الخطأ؛ أي في نهاية الشريط المخلَّق حديثًا. لكن إذا لم ينتبه جسيمُ التضاعف إلى عدم التطابق، فكيف ستتعرَّف الخلية على الشريط الذي يحتوي على التسلسل الصحيح وذلك الذي يحمل الخطأ؟ الإجابة ببساطة هي أن بكتيريا الإشريكية القولونية توسم أشرطة

الدي إن إيه الخاصة بها. لكن عملية الوسم هذه تأخذ بضع دقائق. لذا في هذه الأثناء تتمكَّن الخلايا من التمييز بين الأشرطة الأصلية والفرعية. وهذا يتيح لنظام إصلاح عدم التطابق أن يتحقَّق من الشريط الفرعي بحثًا عن أخطاء.

تقع مهمة الوسم على عاتق إنزيم ميثيلاز أدينين الدي إن إيه، الذي يربط مجموعات الميثيل ($-CH_3$) بالأدينين، ولكن فقط عندما يوجد بالتسلسل GATC. هذا التسلسل مهم لأن تسلسله التكميلي هو CTAG؛ أي إنه التسلسل نفسه، ولكن بالعكس. وهذا يعني أنه بمجرد أن يكمِل هذا الإنزيم دورته في الجينوم المخلَّق حديثًا (والتي تستغرق قُرابة دقيقتين)، سيكون هناك العديد من أزواج مجموعات الميثيل المواجهة بعضها بعضًا. يظهر التسلسل GATC بانتظام نسبيًّا في جينوم بكتيريا الإشريكية القولونية، ومن ثَم تصبح مجموعات الميثيل بمنزلة علامات منتظمة تشير إلى الشريط الأصلي الأقدم. أو على الأقل تقوم بهذه المهمة في هاتين الدقيقتين، وهذه الفترة طويلة بما يكفي بالنسبة إلى نظام إصلاح عدم التطابق كي يُجري مسحًا للجينوم.

يتكوَّن نظام إصلاح عدم التطابق من ثلاثة بروتينات. أول البروتينات التي يجري تنشيطها هي بروتينات MutH (انظر الشكل ٦-٤). ترتبط هذه البروتينات بمواقع GATC/CTAG، ولكنها لا تقوم بذلك إلا عندما توجد مجموعة ميثيل واحدة؛ أي، أحد أشرطة الدي إن إيه قد جرى تخليقه حديثًا. بعد ذلك، تَفحَص بروتينات MutS فيما بين أزواج MutH، ثم ترتبط بالطفرات الناجمة عن عدم التطابق. وبمجرد تثبيت بروتينات MutS في مكانها، فإنها توظِّف البروتينات الثالثة؛ بروتينات MutL. عندئذٍ يُسحب الدي إن إيه من الاتجاهين عبر مركَّب MutL–MutS، ما يكوِّن حلقةً من الدي إن إيه تبرُز إلى أعلى. وفي تلك العملية، يصطدم بروتينا MutH في نهاية المطاف بمركَّب MutL–MutS ويكوِّنون معًا مركبًا أكبر. يحفِّز هذا عملَ إنزيم إندونيوكلياز في بروتينات MutH، التي يضع كلٌّ منها شقًّا صغيرًا في شريط الدي إن إيه الجديد. عندئذٍ تنفصل البروتينات وتجلِب معها شريطَ الدي إن إيه الفرعي المقتطع. وبعد فترة وجيزة، يكوِّن إنزيم بوليميراز الدي إن إيه الثالث شريطًا فرعيًّا جديدًا يُثبَّت في مكانه بإنزيم ليجاز دي إن إيه لإكمال عملية الإصلاح.

تمثِّل هذه العملية آخرَ فرصة لبكتيريا الإشريكية القولونية كي تصحِّح أيَّ أخطاء في تضاعُف الدي إن إيه لديها. لكن لا تزال الفرصة كبيرة لوقوع أخطاء في الدي إن إيه. على سبيل المثال، من مصادر إحداثِ التلف الشائعة على وجه الخصوص الضوءُ فوق البنفسجي. ومن الطرق التي يُغيَّر بها الدي إن إيه تحفيزُ تكوين روابطَ تساهمية بين



شكل ٦-٤: نظام بروتين MutH الخاص بإصلاح عدم التطابق.

قواعد الثايمين أو السايتوسين المتجاورة. هذه البنيات الثنائية تربِك الاقترانَ الطبيعي للقواعد ما يؤدي إلى تلفٍ في البنية اللولبية المنظِّمة، سيؤدي إلى عواقبَ خطِرة على الخلية إذا تُرِك من دون إصلاح. ومن دون الطاقة من الضوء فوق البنفسجي، فإن تكوُّن هذه البنيات الثنائية سيكون مستبعدًا إلى حدٍّ بعيد. لكن بمجرد تكوُّنها، فإنه يصعُب تصحيحها من دون مصدر طاقة مماثل. لكنَّ الجميل أنه من بين الطُّرق التي تتعامل بها الآلةُ الخلوية مع هذه البنيات الثنائية، نظامُ إنزيمات فوتولياز، الذي يستخدم الطاقةَ الموجودة في الضوء المرئي لتصحيح التلف الذي سبَّبه الضوءُ فوق البنفسجي.

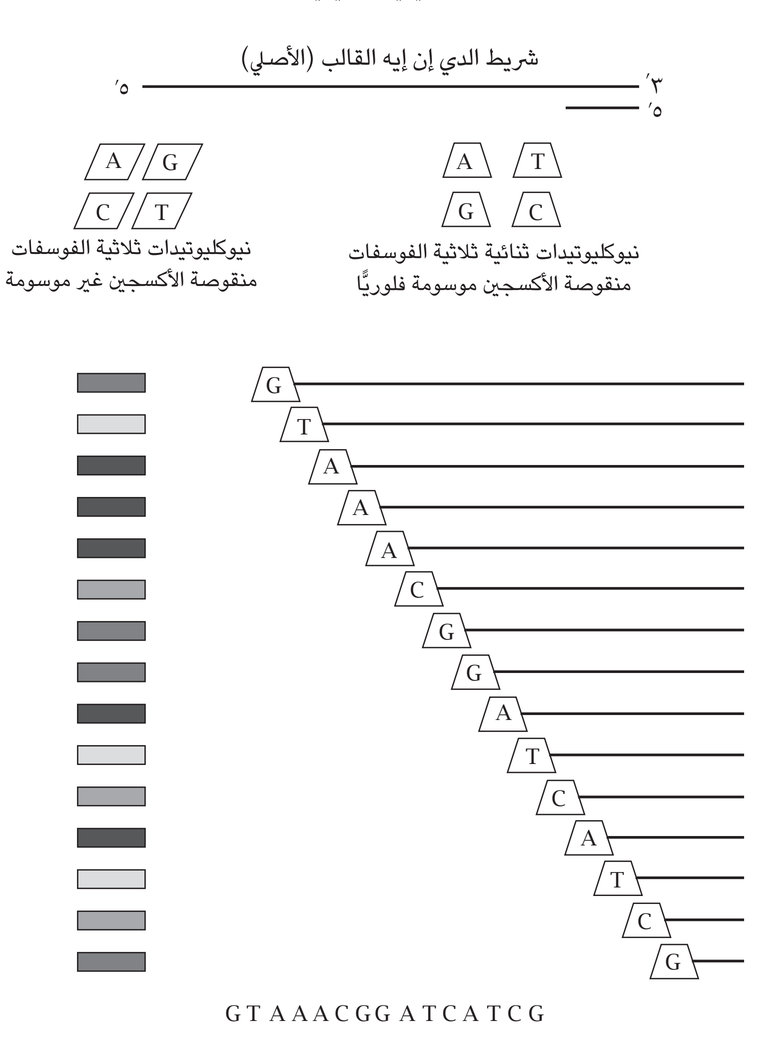
هذه الآلية واحدةٌ من الآليات الكثيرة التي تستخدمها الخلية للحفاظ الدقيق على سلامة سجلات الدي إن إيه الثمينة الخاصة بها. ويوجد العديد من الأنظمة الأخرى التي تطوَّرت كي تتعامل مع الدي إن إيه من أجل إصلاح الفواصل الناجمة عن التلف الكيميائي وحتى المهاجمة المباشرة للدي إن إيه للكائنات الغازية.

تحديد تسلسل الدي إن إيه وتضخيمه

أدَّى اكتشاف الطُّرق التي تُضاعِف بها الخلايا الدي إن إيه الخاص بها إلى طرح السؤال التالي: هل يمكننا الاستفادة من هذه الآلات الطبيعية المذهلة لإلقاء الضوء على الدي إن إيه نفسه؟ نتج عن هذا النهج تطبيقان، كلاهما يستخدم إنزيم بوليميراز الدي إن إيه.

التطبيق الأول هو تحديد تسلسل الدي إن إيه الذي مكَّننا من قراءة الجينومات وغير ذلك الكثير. يوجد الآن عدة طرق لتحديد تسلسل الدي إن إيه، ولكن أول أسلوب استُخدم على نطاق واسع طوَّره فريدريك سانجر عام ١٩٧٧ (وهو العالِم نفسه الذي كان أول مَن توصَّل إلى طريقةٍ لتحديد تسلسل البروتينات؛ ارجع إلى الفصل الأول).

تبدأ عملية تحديد التسلسل التي اكتشفها سانجر بامتداد الدي إن إيه المعني (انظر الشكل ٦-٥). أولًا يجري تفكيكه بتسخينه حتى درجة حرارة ٩٠ درجة مئوية تقريبًا. يؤدي هذا إلى تفكُّك اللولب المزدوج وانفصاله إلى شريطين منفردين. وبعد ذلك، يُضاف إلى المزيج بادئة قصيرة أحادية الأشرطة مصمَّمة خصوصًا للارتباط بالجزء التكميلي للدي إن إيه المعني. تشترك البادئة مع الشريط الطويل لإنشاء جزء قصير ثنائي الأشرطة، حيث يمكن أن يبدأ إنزيم بوليميراز دي إن إيه في نشاط التضاعف الخاص به. وبالإضافة إلى الدي إن إيه والإنزيم، توجد أربع نيوكليوتيدات (الأدينوسين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين والثايمين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين والجوانين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين والسايتوسين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين، والتي يُطلق عليها مجتمعةً النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين). عند هذا الحد، تُقسم العينة إلى أربعة أجزاء، ويضاف جزء صغير من شكل مختلف من النيوكليوتيدات يسمَّى النيوكليوتيدات الثنائية الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين إلى كل جزء من الأربعة الأجزاء. يختلف هذا الشكل عن النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين في جانب واحد مهم، وهو أنه يخلو من مجموعة $3'-\mathrm{OH}$ المطلوبة لإضافة نيوكليوتيدة لاحقة. وبناءً على ذلك، فإنه يمكن دمجه في الدي إن إيه، ولكن بمجرد أن يثبت في مكانه، تنتهي عملية استطالة شريط الدي إن إيه. تمتاز النيوكليوتيدات الثنائية المنقوصة الأكسجين الثلاثية الفوسفات المستخدَمة في عملية تحديد التسلسل بسمةٍ أخرى مهمة وهي احتواؤها على وسمٍ من نوعٍ ما (كان الوسم مشعًّا في البداية، ولكنه الآن أصبح فلوريًّا في الغالب).



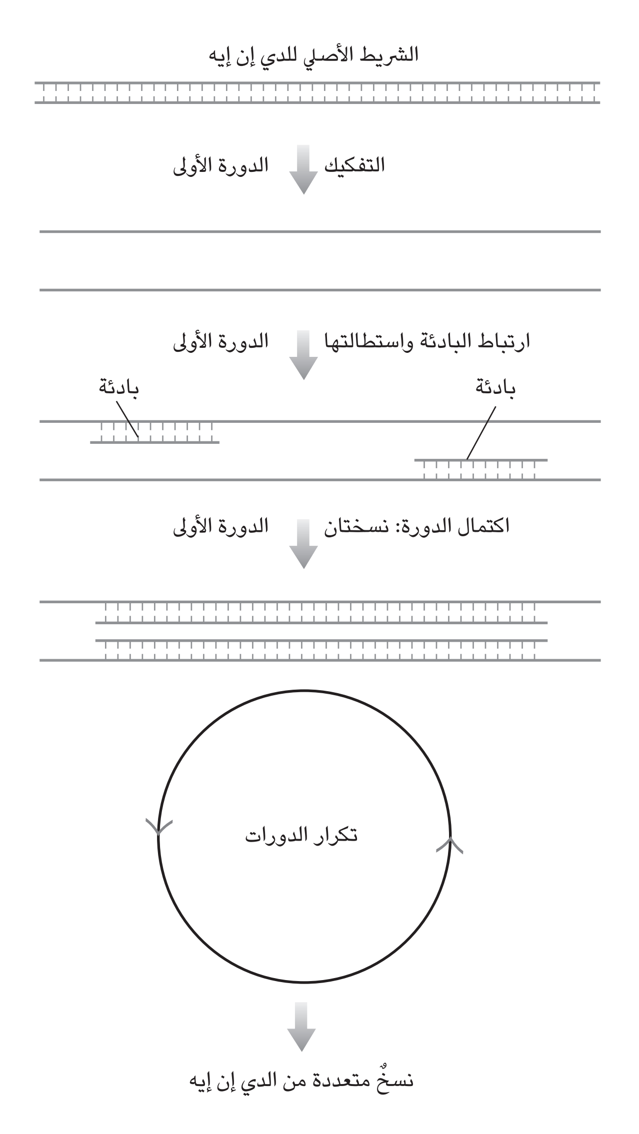
شكل ٦-٥: طريقة سانجر لتحديد تسلسل الدي إن إيه.

لتوضيح كيف يتيح لنا هذا تحديدَ تسلسل الدي إن إيه، لنتخيَّل ما سيحدُث مع التسلسل GAT TAC AGA TTA C في الأنبوب الذي يحتوي على ثنائي الأدينوسين ثلاثي الفوسفات منقوص الأكسجين. يشرع إنزيم بوليميراز الدي إن إيه في إنشاء

دي إن إيه تكميلي عند بداية التسلسل. في البداية، يضيف السايتوسين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين لإكمال قاعدة الجوانين، ثم يضيف الثايمين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين لمطابقة قاعدة الأدينين. وعندما يصل إلى أول قاعدة ثايمين، فإنه يحاول إضافة نيوكليوتيدة تكميلية من الأدينوسين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين؛ وإذا فعل ذلك، فإنه يستمر في مهمته. لكن إذا أضاف نيوكليوتيدة ثنائي أدينوسين ثلاثي الفوسفات منقوص الأكسجين، فسيتوقف تفاعل الاستطالة. وفي كل مرة يصل فيها إنزيم البوليميراز إلى نيوكليوتيدة أدينوسين ثلاثي الفوسفات منقوص الأكسجين، تُتاح له الفرصة لجذب نيوكليوتيدة ثنائي أدينوسين ثلاثي الفوسفات منقوص الأكسجين، ما يؤدي إلى توقُّف التفاعل. وهذا يعني أن الأنبوب سيحتوي على خليط من النواتج CTA وCTAA وCTA ATG TCT A وCTA ATG TCT AA وCTA ATG CTT AAG. بعد ذلك، يُفصل بين هذه النواتج ذات الأطوال المختلفة حسب الحجم ويُنشأ تمثيل لها من خلال الوسم المشع أو الفلوري. وتحليل هذه البيانات يسمح لنا بمعرفة أن القاعدة الثالثة والرابعة والعاشرة والحادية عشرة كلها من الأدينين. في غضون ذلك، يتكرَّر الشيء نفسه — في ثلاثة تفاعلات منفصلة أخرى — مع النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين الأخرى، ومن خلال كل هذا يتكشَّف تسلسلُ الدي إن إيه بالكامل.

طريقة سانجر لتحديد تسلسل الدي إن إيه جعلته يحصل على جائزة نوبل للمرة الثانية عام ١٩٨٠ (ما جعله في مصافِّ النخبة المكوَّنة من أربعة علماء حصلوا على جائزة نوبل مرتين، والآخرون هم ماري كوري ولاينوس بولينج وجون باردين). ولا شك أن تلك التقنية كانت تقدمًا ثوريًّا؛ حيث إنها أتاحت لنا أخيرًا سبْر أغوار تركيب الجينات. لكنها كانت تنطوي على تقييد كبير. فمن الواضح أنها تحتاج إلى عينة كبيرة من الدي إن إيه المراد معرفة تسلسله. حينذاك، لم يكن أمرًا متصورًا تحديد الشفرة الوراثية لعينة ضئيلة الحجم جدًّا جُمعت من بضع خلايا أو أُخذت من بقايا حفرية. يمكن القول إن مثل هذه الأحلام اضطر تحقيقها إلى الانتظار حتى ظهور أهم تطور كيميائي حيوي في العصر الحديث، وهو تفاعل البوليميراز المتسلسل (الذي يُعرف اختصارًا ببي سي آر؛ انظر الشكل ٦-٦).

تفاعل البوليميراز المتسلسل أداة جوهرية في الكيمياء الحيوية وعلم الأحياء الجزيئي الحديثَين، لدرجة أنْ وصفته جريدة «ذا نيويورك تايمز» بأنه «يقسم علم الأحياء فعليًّا إلى عهدين؛ عهد ما قبل تفاعل البوليميراز المتسلسل، وعهد ما بعد تفاعل البوليميراز



شكل ٦-٦: تفاعُل البوليميراز المتسلسل.

المتسلسل». وفي الحقيقة، أيُّ شخص يعمل مع الدي إن إيه في المختبر لا بد أن يتعامل مع هذه التقنية (وأنا بالتأكيد قد قضيت معظمَ دراساتي الخاصة بالدكتوراه وأنا أستخدمها).

الميزة الكبرى في تفاعل البوليميراز المتسلسل هي إتاحة عمل نسخٍ غير محدودة من تسلسل الدي إن إيه بدءًا من أصغر العينات. وذلك أتاح لنا دراسةَ كل شيء بدايةً من شظايا الدي إن إيه القديمة المستخرَجة من عظام إنسان النياندرتال وحيوانات الماموث المتجمِّدة، وحتى العينات التي تُؤخذ من الأفراد لاكتشاف الإصابة بفيروس كوفيد-١٩ والأدلة التي تُترك في مسرح أي جريمة.

تفاعُل البوليميراز المتسلسل في واقع الأمر بسيطٌ إلى حدٍّ بعيد لدرجة أن مبتكره كاري موليس (الذي تُوفِّي للأسف وأنا أكتب هذا الفصل) تعجَّب، في خطابه الذي ألقاه عندما تسلَّم جائزة نوبل عام ١٩٩٣، من أنه لم يفكر فيه أحدٌ من قبل:

> قلت متعجبًا: «يا إلهي!» لقد توصَّلت إلى حلٍّ لأصعب المسائل في كيمياء الدي إن إيه في لمح البصر. الوفرة والتمييز. فباستخدام اثنين من قليل النيوكليوتيدات، وإنزيم بوليميراز الدي إن إيه، وأربع نيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات، كان بإمكاني تكوين أي قدر أريده من تسلسل الدي إن إيه، وكان بإمكاني ذلك على شظية ذات حجم محدَّد يسهُل عليَّ تمييزه. وبنحو أو بآخر، ظننت أن الأمر مجرَّد وهم. أو أنه كان سيغيِّر كيمياء الدي إن إيه إلى الأبد. أو سيُكسبني شهرةً كبيرة. كان الأمر غاية في البساطة. كان من الممكن أن يتوصَّل إليه شخص آخر، وكنت سأسمع عن الأمر بالتأكيد. وكنا سنستخدمها على الدوام. فما الصعوبة التي كانت تواجهني في فهْم هذه المسألة؟

وفي واقع الأمر، ربما تُرك جيلٌ من علماء الكيمياء الحيوية يتساءلون لماذا لم يفكِّروا هم في هذه التقنية. وقد حاجج حتى البعض (وقد رفعوا الأمر إلى المحكمة) بأنهم فعلوا ذلك؛ فقبل سبعة عشر عامًا من عمل موليس، نشرت مجموعة — بقيادة إتش جوبند خورانا عالِم الكيمياء الحيوية الحاصل على جائزة نوبل — شيئًا يشبه تفاعُل البوليميراز المتسلسل إلى حدٍّ كبير.

تقول القصة إنه عندما كان موليس عائدًا من عمله إلى المنزل في سيارته، عصفت بذهنه فكرةٌ رائعة (الاقتباس السابق جزء من روايته لتلك القصة). تخيَّل طريقة لأخذ نسخة واحدة من جينٍ ما وتضخيمها مليون مرة. أولًا، كان سيسخن الدي إن إيه إلى درجة حرارة أعلى من ٩٠ درجة مئوية، ما يؤدي إلى تفكيك اللولب المزدوج؛ تمامًا كما يحدُث في تقنية تحديد التسلسل الخاصة بسانجر. بعد ذلك، كان يمكن إضافة بادئتي

دي إن إيه إلى المزيج، مع تصميم كل بادئة منهما كي ترتبط بشريط مختلف من الدي إن إيه بحيث يكوِّنان حاجزًا أمام الجين. وعندما بُرد المزيج، سترتبط كلٌّ من البادئتين بشريط الدي إن إيه الذي تستهدفه. إن كان المزيج يحتوي على إنزيم بوليميراز الدي إن إيه والعديد من النيوكليوتيدات الإضافية، فسيرتبط الإنزيم بالبادئتين ويبدأ في تضاعُف الدي إن إيه. لقد لاحظ في نهاية العملية أن عدد جزيئات الدي إن إيه قد تضاعف. وإذا كرَّر الدورة، فستحدث المضاعفة مرارًا وتكرارًا. وإن كرَّر الدورة عشرين مرة، فبإمكانه أن يُنشئ ما يزيد على مليون نسخة من الجين المأخوذ من قالب دي إن إيه واحد.

لقد نجح الأمر. ومع ذلك، كان هناك أحد المنغِّصات متمثِّل في تعطيل إنزيم بوليميراز الدي إن إيه بفعل درجة الحرارة ٩٠ درجة مئوية اللازمة لتفكيك الدي إن إيه. ومن ثَم بعد كل خطوة من خطوات التسخين في كل دورة جديدة، كان يجب إضافة إنزيم جديد غالٍ إلى المزيج. يرجع الفضل في التقدم الذي جعل تقنيةَ تفاعُل البوليميراز المتسلسل هي التقنية السائدة اليوم إلى بكتيريا تسمَّى «المستحرة المائية»، كانت تعيش في ينبوع ماء شديد السخونة داخل حديقة يلوستون الوطنية. ولأن بكتيريا المستحرة المائية محبَّة للحرارة، فإنه يدخل في تكوينها مجموعةٌ كاملة من البروتينات المستقرة حراريًّا، تتضمَّن إنزيم بوليميراز دي إن إيه تطوَّر للعمل في درجة حرارة تزيد عن ٧٠ درجة مئوية. وعند عزل إنزيم البوليميراز «تاك» (Taq) هذا (كما أصبح معروفًا) واستخدامه في تفاعل البوليميراز المتسلسل، فقد استطاع البقاء في درجات حرارة تقترب من درجة الغليان، ومن ثَم لم تَعُد هناك حاجة إلى تجديد الإنزيم بين الدورات. ونتيجة لذلك، أصبح بالإمكان إعداد أنبوب التفاعل في غضون دقائق وإحكام غلقه ثم وضعه في جهاز تدوير حراري آلي. وبعد ساعة أو نحو ذلك، سيعود العلماء ليجدوا ملايين النُّسخ المنشأة حديثًا من الجين أو أي تسلسل آخر محل اهتمام.

إذن، تفاعُل البوليميراز المتسلسل وتقنية تحديد تسلسل الدي إن إيه رفيقان مثاليان. فبساطةُ تفاعُل البوليميراز المتسلسل تغلَّبت على التقييد الكبير لتقنية تحديد التسلسل باستخدام طريقة إنهاء السلسلة والمتمثل في الحاجة إلى كمياتٍ كبيرة من الدي إن إيه. وبفضل هذين الاكتشافين، حدثت طفرة في مجال التكنولوجيا الحيوية.

الفصل السابع

تتبُّع الكيمياء الحيوية داخل الخلية

تهتم الكيمياء الحيوية في جوهرها بدراسة الجزيئات الحيوية وتفاعلاتها. ومنذ أن اكتشف أنسيلم باين إنزيم الأميليز عام ١٨٣٣، فإن النهج السائد في هذا المجال هو استخلاص كميات كافية من الجزيء وتنقيته وعزله بحيث تتمكَّن التقنيات التحليلية المتاحة في وقتها من اكتشافه وقياسه. ونتيجةً لذلك، وعلى مدى معظم تاريخ الكيمياء الحيوية، فإننا ندرُس سلوك مجموعات من الجزيئات. فقد اكتشف مولدر (ارجع للفصل الأول) متوسطَ تركيب العناصر في بياض البيض؛ وشاهد أنفينسن (ارجع إلى الفصل الثالث) نتيجةَ إعادة طي مجموعة من جزيئات البروتين بطرقها الخاصة؛ أما فرانكلين (ارجع إلى الفصلين الأول والرابع) فلم يتعرَّف على بنية اللولب المزدوج في الدي إن إيه فحسب، بل تعرَّف أيضًا على مجموعة الجزيئات المكتظة في بلوراته.

لكن على الرغم من النتائج المثمرة الجمَّة لهذا النهج، فإن له بعض العيوب الواضحة. إن أبرز تلك العيوب هي أننا، بدراسة مجموعة الجزيئات، لا نرى سوى السلوكيات المتوسطة، وبإخراج الجزيئات من بيئتها الأصلية، فإننا لا ندرُس التفاعلات الحيوية.

الأفضل أن يبدَّل هذا النهج ويحل محله نهجٌ يعمل على دراسة الجزيئات الفردية. وعندما نطبِّق هذا النهج الفردي على المواد الكيميائية الحيوية، فإننا ندخل إلى عوالم الفيزياء الحيوية للجزيئات الفردية. تكمُن الميزة الكبرى هنا في أننا لا يزال بإمكاننا — باستخدام قياسات متعدِّدة — استخلاص السلوكيات المتوسطة. يمكننا كذلك استنباط معلومات بشأن توزيع السلوكيات القابعة على جانبي المتوسط. ومع أن هذا النهج يبدو مثاليًّا، فإن هناك بالطبع تحديات فنية هائلة مرتبطة بدراسات الجزيئات الفردية، ليس أقلها مشكلة نسبة الإشارة إلى الضوضاء.

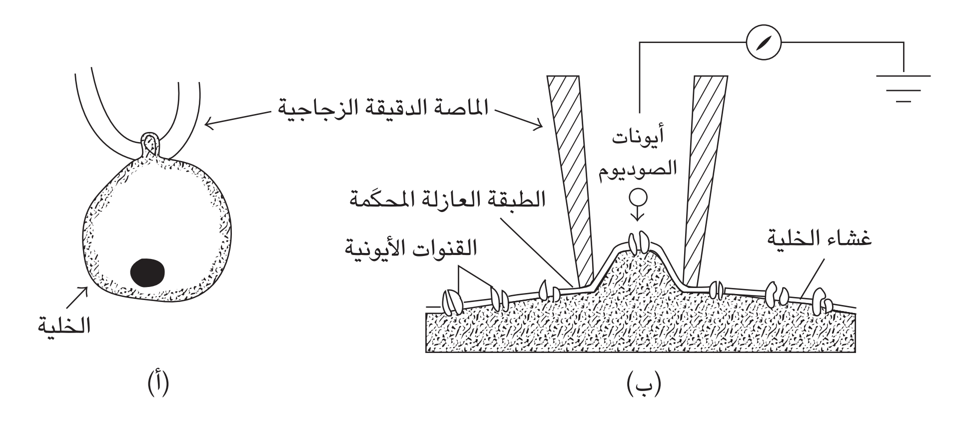
الالتقاط الرقعي

في حين أن معظم تقنيات الكيمياء الحيوية كانت تركِّز على قياس مجموعات الجزيئات، فقد عكف إرفين نيهر وبيرت ساكمان (في سبعينيات وثمانينيات القرن العشرين) على تطوير طريقة لدراسة وظيفة الجزيئات الأحادية البروتين. فقد درسا مسألةَ نسبة الإشارة إلى الضوضاء عن طريق عزل بروتين فردي وفي الوقت نفسه إبقائه في بيته الأصلية. حقَّق العالِمان ذلك عبر تسجيل حركة الأيونات عبر القنوات الأحادية البروتين الموجودة في سطح الخلايا. حينذاك، كان معروفًا أن الأيونات يمكنها أن تتحرَّك بسرعة عبر أغشية الخلايا، لكن لم يكن هناك فهْم واضح للآلية التي تتحكَّم بها الخلايا في هذا التدفُّق. خلَص نيهر وساكمان إلى أن حركة الأيونات في جوهرها عبارة عن تدفُّق للتيار الكهربي، ومن ثَم فإن قياس التيار سيوفِّر معلومات قيِّمة عن كيف تتدفَّق الأيونات وما يتيح لها ذلك.

تكوَّنت التجربة من ماصة دقيقة زجاجية صغيرة لا يبلغ قطر فوَّهتها أكثرَ من ميكرومتر واحد. احتوى الجزء الأسطواني الطويل الرفيع من الماصة الدقيقة على قطب كهربي ومحلول متأين. أُحدث بعناية تلامسٌ بين فوَّهة الماصة الدقيقة وخلية، ويجري قدْر صغير من الشفط لتكوين طبقة عازلة ترتبط على نحو محكَم بالخلية. غُمست الرقعة التي بداخل الماصة الدقيقة والماصة الدقيقة نفسها وقطب كهربي ثانٍ في حوض من المحلول المتأين، ووُصِّل قُطبا الكهرباء. كوَّن القطبان الكهربيان ومحلول التأيُّن ورقعة الغشاء دائرةً أمكن قياسُ تدفُّق التيار الكهربي حولها. وإذا احتوت رقعة الغشاء المعزولة على قناة منفردة، فإن المسار الوحيد الذي ستتخذه الأيونات كان هو ذلك الجزيء الأحادي البروتين.

عندما فُتحت القناة داخل الرقعة المعزولة وأُغلقت، أظهر جهاز نيهر وساكمان بوضوح تغيراتٍ مميزة وطفيفة (بوحدة البيكو أمبير) في التيار (انظر الشكل ٧-١). وقد أوضحتْ هذه القياسات بنحو قاطع أن بروتيناتٍ معينة تتحكَّم في تدفُّق أيونات معينة. على سبيل المثال، توجد قنوات تتيح مرورَ أيونات الصوديوم، ولكن ذلك البروتين نفسه يمنع تمامًا مرور أيونات مماثلة للغاية مثل أيونات البوتاسيوم أو الكالسيوم، ومن ثَم لا بد أن تمرَّ عبر قنواتها المخصَّصة لها.

وفَّر الالتقاط الرقعي رؤًى بشأن آلة البروتين التي تتحكَّم في تدفُّق الأيونات دخولًا إلى الخلايا وخروجًا منها. فقد أوضحت أن بروتينات الأغشية ليست مجرَّد فجوات مخصَّصة



شكل ٧-١: الالتقاط الرقعي.

لعبور أيونات معينة في الغشاء، بل إن بعضها بمنزلة بواباتٍ لا تُفتح إلا استجابة لمحفِّزات محدَّدة للغاية. تمثَّل أول هدف خضع للدراسة في مستقبِل الأسيتيلكولين، وهو بروتين يُفرز في العضلات ويكتشف الإشارة من الخلايا العصبية الحركية. الأسيتيلكولين عبارة عن ناقل عصبي (ناقل كيميائي ينطلق من الخلايا العصبية في صورة إشارات إلى الخلايا الأخرى، مثل الخلايا العصبية والخلايا العضلية)، وتطلق الخلايا العصبية الحركية الأسيتيلكولين في الموصِّل بين الخلية العصبية والخلية العضلية.

تبيِّن قياساتُ الالتقاط الرقعي أن المستقبِل يبقى مغلقًا بإحكام من دون الأسيتيلكولين. لكن عند إضافة الناقل العصبي إلى المزيج، تغيَّر سلوك المستقبِل تغيرًا كبيرًا. والمدهش أن المستقبِل لم يتحوَّل من حالة الانغلاق إلى حالة الفتح فحسب، بل إنه كان يتذبذب بين الحالتين؛ إذ يفتح لبضعة ملِّي ثوانٍ قبل أن يغلق مرة أخرى، أحيانًا لعدة مئات من الملِّي ثوانٍ. هذا مثال ممتاز على مدى إمكانية التجاهل التام من جانب نهج دراسة مجموعات الجزيئات للسلوك الذي سيبدو واضحًا على الفور من ملاحظة الجزيء الفردي. لقد كانت ستُظهر دراسة مجموعات المستقبِلات أنها ستُفتح في وجود الأسيتيلكولين، وتتجاهل تمامًا استجابةَ الفتح/الإغلاق الثنائية والعشوائية الخاصة بالبروتين.

البروتين الفلوري الأخضر

في عام ٢٠٠٨، حصل أوسامو شيمومورا — إلى جانب عالمين آخرين — على جائزة نوبل في الكيمياء نظير عمله على بروتين أحدث ثورة في الطريقة التي يتتبَّع بها علماء الأحياء والكيمياء الحيوية العمليات داخل الخلايا الفردية.

لم يكن طريق شيمومورا إلى الجائزة طريقًا عاديًّا. ففي عام ١٩٤٥، حينما كان في السادسة عشرة من عمره، وبينما كان يعمل في مصنعٍ لإصلاح الطائرات، شهدَ وميض الضوء الساطع وموجةَ الضغط المنبعثين من القصف النووي لناجازاكي، الذي كان مركزُه يبعُد عنه ١٢ كيلومترًا فقط. كانت فرص التعليم ضئيلةً في اليابان التي مزَّقتها الحرب، ولكن بحلول عام ١٩٥١، كان قد تخرَّج شيمومورا في كلية الصيدلة (على الرغم من أنه لم يكن ينوي أن يكون صيدلانيًّا)، وحصل على وظيفةٍ في مختبر كيمياء بجامعة ناجويا. اهتمَّ مشرِفه بالتألق الحيوي، ولا سيما ما يجعل نوعًا من الرخويات يتلألأ. كانت هذه المهمة على ما يبدو مستعصيةً على طالبٍ شاب ليست لديه الخبرة؛ إذ لم تتمكَّن مجموعات أخرى من العلماء البارزين من إحراز تقدُّم في هذا الأمر على الرغم من العمل الذي امتد عقودًا. لكن بعد عشرة شهور فقط من العمل، نجح شيمومورا في عزل جزيء لوسيفرين وبلورته. وذلك شكَّل ركيزةً لإنزيم اللوسيفراز المسئول عن تحفيز التفاعل الذي يبعث الضوء ويجعل الحيوان الرخو يتلألأ. انبهر به مشرِفه بشدة، وأعدَّ الترتيبات كي يحصل شيمومورا على درجة الدكتوراه على الرغم من أنه لم يسجِّل للحصول عليها. ترك العمل أيضًا انطباعًا على نحوٍ أبعدَ من ذلك؛ إذ لفت انتباه البروفسير فرانك جونسون بجامعة برينستون، الذي عرض على شيمومورا وظيفةً مهمَّتها البحثُ في كائن آخر ذي وميض أخضر وهو قنديل البحر البلوري.

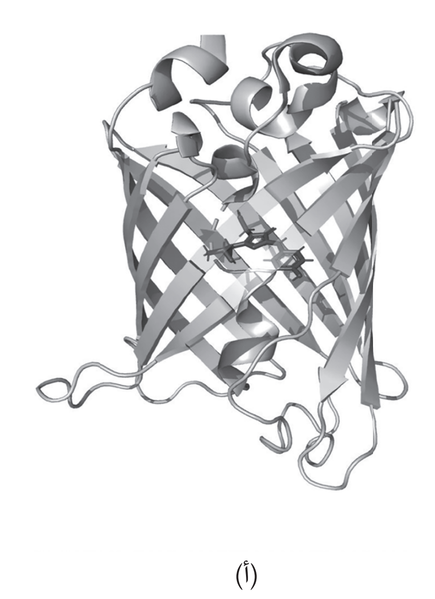
وفي صيف عام ١٩٦١، جمع جونسون وشيمومورا الآلاف من قناديل البحر واستخرجا بروتينًا يمتص الضوء الأزرق ويبعثه على هيئةِ لون أخضر، وقد أسمياه البروتين الفلوري الأخضر. تبيَّن أن البروتين الفلوري الأخضر يمتاز بسمةٍ مفيدة على نحوٍ خاص لم تُكتشف قبل ذلك. إن كل أنظمة التألق الحيوي التي سبقت دراستها والبروتينات الأخرى التي تستجيب إلى الضوء تطلبت روابط أو عوامل مرافقة إضافية كي تكون بمنزلة حاملات لون تمتص الضوء وتبعثه. على سبيل المثال، أولُ نظام عمل عليه شيمومورا يبعث الضوء عندما يتأكسد جزيء لوسيفرين بفعل إنزيم لوسيفراز، في حين أن البروتينات التي تجمع الضوء — التي تناولناها في الفصل الخامس — تحتاج

إلى جزيئات الكلوروفيل كي تكون بمنزلة هوائيات ضوئية. البروتين الفلوري الأخضر ليس كذلك. إنه نظام مضيء قائم بذاته يتكوَّن من الأحماض الأمينية فقط ولا يحتاج إلى حامل لون خارجي. يتكوَّن حامل اللون الداخلي في البروتين الفلوري الأخضر من ثلاثة أحماض أمينية متجاورة، وهي السيرين أو الثريونين، والتايروسين والجلايسين (في المواضع ٦٥ و٦٦ و٦٧). تُدفع هذه الأحماض إلى ترتيب معيَّن بفعل طية البروتين. ثم مع وجود الأكسجين، يتفاعل الثريونين مع الجلايسين لتكوين بنية دورية غير عادية. وهنا، وبمشاركة التايروسين المجاور، يتكوَّن حامل اللون (انظر الشكل ٧-٢(أ)).

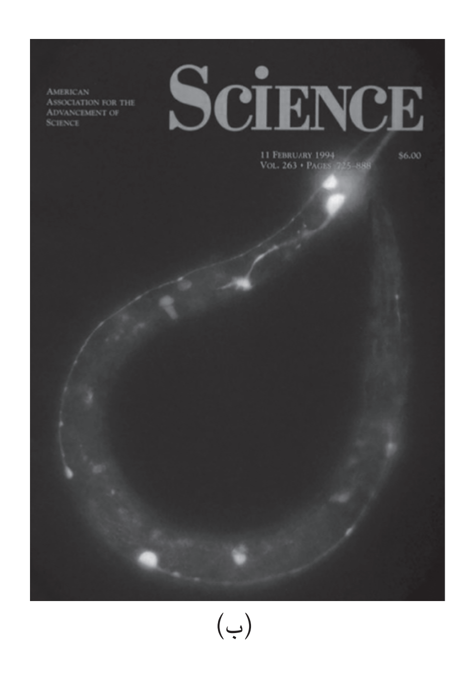
في عام ١٩٨٨، سمِع مارتن تشالفي عن البروتين الفلوري الأخضر، وأدرك أن سِماته الفريدة يمكن أن تساعده في دراسة مواقع البروتينات الأخرى في الكائن النموذجي المفضَّل لديه (ولدى العديد من علماء علم الأحياء الإنمائي) وهو الدودة الصغيرة الشفافة التي تسمَّى «الربداء الرشيقة». اهتم تشالفي بتحديد الأماكن التي يحدُث فيها التعبير عن جينات مستقبِلات اللمس في ديدان الربداء الرشيقة. ومن ثَم دمجَ جين البروتين الفلوري الأخضر في محفِّز جيني ينشِّط هذه المستقبِلات بصورة طبيعية. وقد نُشرت النتائج في مجلة «ساينس» في فبراير عام ١٩٩٤. وعلى غلاف العدد، كانت توجد صورة مذهلة تعرض دودةً ذات لون أخضر باهت، يُرى في داخلها بوضوح العديدُ من الخلايا العصبية الخضراء البرَّاقة (انظر الشكل ٧-٢(ب))، وبذلك يتضح — على حدِّ ما أورده السطر الأخير في ملخَّص الورقة البحثية بإيجاز — «أنه يمكن استخدام البروتين الفلوري الأخضر لمراقبة التعبير عن الجينات وتحديد مواضعها في الكائنات الحية». ولهذا السبب وكذلك بسبب التطورات الأخرى التي أسهم فيها البروتين الفلوري الأخضر، تشارك تشالفي جائزةَ نوبل مع شيمومورا.

كانت هذه مجرد البداية فيما يتعلَّق بتطبيقات البروتين الفلوري الأخضر. فسرعان ما تبيَّن أنه يمكن أيضًا دمجُ البروتين الفلوري الأخضر في أي بروتين آخرَ دمجًا جينيًّا مباشرًا من دون التأثير في وظيفة أيٍّ من نوعَي البروتين. وكان هذا يعني إمكانية استخدام البروتين الفلوري الأخضر لتتبُّع البروتينات داخل الكائنات الحية والخلايا الفردية.

العالِم الثالث الذي تشارك مع تشالفي وشيمومورا جائزةَ نوبل هو روجر تشين الذي درَس بنيةَ البروتين الفلوري الأخضر بالتفصيل ثم غيَّر تسلسل حامل اللون والأحماض الأمينية المحيطة الخاصة به. وبإحداث طفرات فيهما، تمكَّن من التلاعب في الأطوال الموجية الخاصة بإثارة وانبعاث البروتين، ومن ثَم إنتاج بروتينات فلورية ذات ألوان



(أ)



(ب)

شكل ٧-٢: (أ) تمثيل كرتوني لبنية برميل بيتا الخاصة بالبروتين الفلوري الأخضر. في هذا الرسم التوضيحي، جُعل قسمان من شرائط بيتا شفافان للكشف على نحوٍ أفضل عن حامل اللون (الموضح باللون الرمادي الداكن وبنموذج كرة وعصًا) بالداخل؛ (ب) غلاف مجلة «ساينس» في العدد الصادر في الحادي عشر من فبراير ١٩٩٤، ويبرز دودة الربداء الرشيقة وهي تعبِّر عن البروتين الفلوري الأخضر في مستقبِلات اللمس لديها.

مختلفة، منها السماوي والأصفر والأزرق. وهذه البروتينات أتاحت لعلماء الأحياء بعد ذلك تتبُّع العديد من البروتينات والعمليات الديناميكية في نفس الوقت.

المجاهر النانوية

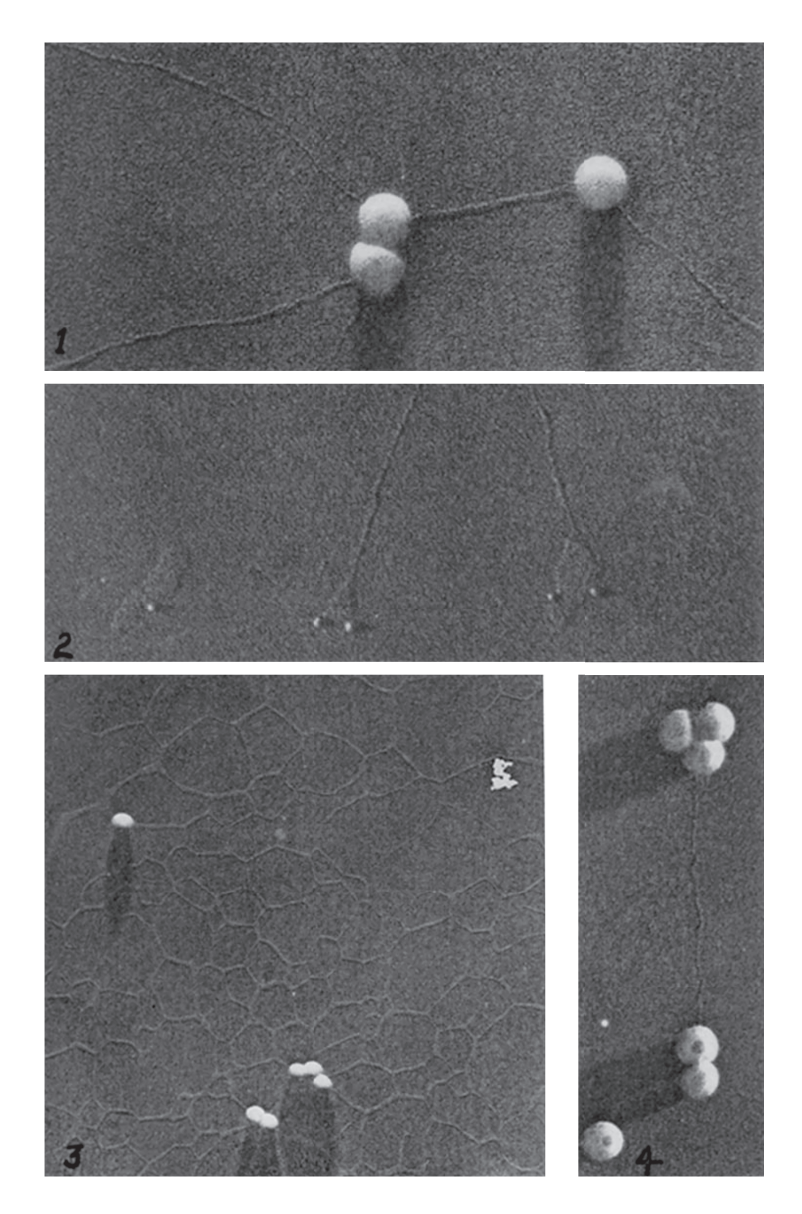
لا شك أن المجهر الضوئي أداةٌ ممتازة لدراسة العوالم الدقيقة التي تفوق قدرات أعيننا المجرَّدة. لكن للأسف، تضع الفيزياء حدًّا لما يمكن أن يُرى من خلال الضوء المرئي. وصف إرنست آبي «حد الحيود» هذا في عام ١٨٧٣ حينما أثبت استحالةَ رؤية جسمين قريبين أحدهما من الآخر بأكثر من نصف طول موجة الضوء المستخدَم لرصدهما. وبما

أن الضوء المرئي تتراوح أطوال موجاته بين ٤٠٠ و٧٠٠ نانومتر، فهذا يعني — من الناحية العملية — أن التصوير المجهري الضوئي مقتصر على دراسة الأجسام التي لا يقلُّ حجمها عن ٠٫٢ ميكرومتر، وهو ما يساوي تقريبًا حجمَ فيروس معقَّد مثل فيروس الفاريولا (الذي يسبِّب الجدري). وبما أن الجزيئات الحيوية عادةً ما تكون أصغرَ من هذا الحجم بعشر إلى مائة مرة، فلن يتمكَّن التصوير المجهري الضوئي التقليدي من دراستها.

تتمثَّل أوضحُ طريقة للتغلب على هذه المشكلة في دراسة الجزيئات الحيوية باستخدام جهاز له طول موجي أقصر بكثير. وبما أن الطول الموجي للإلكترونات يقع في نطاق نانومتر واحد، فتعد الإلكترونات وسيلةً جيدة في هذا الشأن؛ ولذلك شكَّلت أساسَ التصوير المجهري الإلكتروني. وهذا النهج كان هو ذلك الذي استخدمه سيسيل هول الذي في عام ١٩٥٦ استخدم مجهرًا إلكترونيًّا نفاذًا كي يكشف عن الألياف الطويلة في الدي إن إيه التي تتمدَّد بعناية بين اثنتين من حبيبات البوليستيرين (انظر الشكل ٧-٣).

على الرغم من أن رؤيةَ جزيئات مفردة من الدي إن إيه لأول مرة أمر مدهش، فإن هذه الصور توفِّر القليل من المعلومات المفيدة بشأن الدي إن إيه. وهي، في النهاية، خرجت إلى النور بعد ثلاث سنوات من نشر بنية الدي إن إيه المعتمدة على التصوير البلوري على يدِ فرانكلين وواتسون وكريك وويلكنز. والتاريخ يبيِّن جليًّا أيُّ دراسة كان لها التأثير الأكبر. والتصوير المجهري الإلكتروني أيضًا له قيوده الفيزيائية. فالجزيئات الحيوية التي تتكوَّن من ذرات خفيفة نوعًا ما لا يمكن دراستها على نحوٍ جيد باستخدام التصوير المجهري الإلكتروني النفاذ. وكي تُلتقط صور عالية الدقة لهذه الجزيئات، فلا بد من تغليفها جميعًا بمعدنٍ ثقيل مثل الذهب أو البلاتين. كذلك يجب تثبيت العينات على أسطح مشحونة وتجفيفها؛ وهذه الظروف تحمل شبهًا طفيفًا بالبيئات الحيوية ذات الصلة. لذلك، لم يتخلَّ علماء الفيزياء الحيوية قط عن التصوير المجهري الضوئي، وحاولوا بدلًا من ذلك التوصُّل إلى طرقٍ للتحايل على حد الحيود. ونالت جهود إريك بيتزيج وستيفان هيل وويليام مورنر في هذا الشأن التقديرَ، حيث حصلوا على جائزة نوبل في الكيمياء عام ٢٠١٤ نظير «تطوير التصوير المجهري الفلوري الفائق الدقة».

هذه المجاهر الفائقة الدقة — والتي تسمَّى المجاهر النانوية في بعض الأحيان — هي تطويرٌ لأداة فعَّالة جدًّا تسمَّى التصوير المجهري الفلوري. على سبيل المثال، قد يهتم عالِم ببروتين يشكُّ أنه ضالع في إصلاح الدي إن إيه. ومن ثَم، سيوسم البروتين باستخدام وسم البروتين الفلوري الأخضر الذي يصدر ضوءًا أخضر، ومن ثَم ستضيء الكروموسومات في

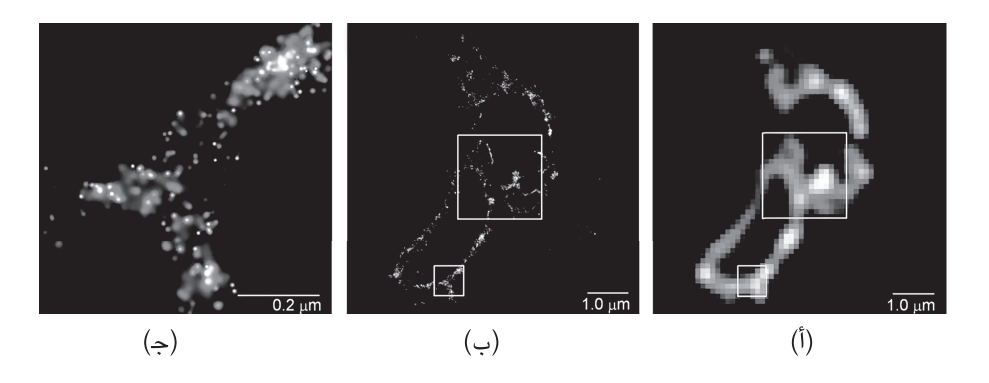


شكل ٧-٣: أول صورة التقطها سيسيل هول بالمجهر الإلكتروني لجزيء واحد من الدي إن إيه يمتد بين حبيبتين من البوليستيرين.

نواة الخلية باللون الأخضر، ما يدعم فرضيته. لكن بسبب حد الانحراف الخاص بآبي، لن يَتوصَّل مطلقًا إلى دقةٍ أعلى من ذلك.

استمر الوضع على هذه الحال إلى أن جاء بيتزيج وهيل ومورنر (وغيرهم، مع أن هؤلاء هم المعروفون فقط لحصولهم على جائزة نوبل) وبيَّنوا أن الفحص المجهري الضوئي يمكن أن يلتقط صورًا عالية الدقة للجزيئات الفردية حينما تتوافر الظروف المناسبة. وبنى بيتزيج على عمل مورنر الذي وجد ثغرة في حد آبي. كان قد أوضح مورنر أن حد الانحراف لا يستبعد رصْد الجزيئات الفردية ما دام يفصل بينها مسافات كافية. فيُنتِج الجسمان القريبان أحدهما من الآخر بأقل من ٠,٢ ميكرومتر صورةً ضبابية أعرض من ٠,٢ ميكرومتر، ولكن الجزيء الفلوري الفردي ينتج صورةً لا يزيد عرضُ الجزء الضبابي فيها على ٠,٢ ميكرومتر. لذا، إذا كنت تعلم أن لديك جزيئًا واحدًا في الصورة، فمن المحتمل أن يكون هذا الجزيء موجودًا في منتصف الجزء الضبابي. وبمعالجةٍ جيدة للصورة باستخدام نظرية الاحتمال، يمكنك إعادة تكوين صورة عالية الوضوح. يكمُن السر في التوصُّل إلى طريقة لالتقاط إشارات من بضعة جزيئات فقط في المرة الواحدة بحيث لا تتداخل إشاراتها مع الصورة الضبابية الأعرض هذه. وقد ورد الحلُّ من عمل مورنر على البروتين الفلوري الأخضر. فإذا أُثير البروتين الفلوري الأخضر بالضوء الأزرق بطول موجي ٤٨٨ نانومترًا، فإنه يصدر ضوءًا أخضرَ بطول موجي ٥٠٩ نانومترات، ولكنه لا يستمر في ذلك إلى أجلٍ غير مسمًّى، وسيتلاشى الانبعاث بمرور الوقت. اكتشف مورنر أنه يمكن إعادة تنشيط الانبعاث بتسليط الضوء البنفسجي على هذا البروتين بطول موجي ٤٠٥ نانومترات.

دمج بيتزيج هذه المعلومات لبناء جهازٍ ينتج صورًا رائعة للجزيئات المفردة داخل الخلايا. أولًا، وُسم بروتين غشائي موجود في الليسوسومات ببروتين فلوري. بعد ذلك، غُمرت الخلايا في ضوءٍ أزرق حتى توقَّفت كل البروتينات عن الإشعاع الفلوري. ثم أُعيد تنشيط البروتينات بضوءٍ بنفسجي ضعيف للغاية. الفكرة في هذه الطريقة هي أن شعاع إعادة التنشيط ضعيفٌ للغاية لدرجةِ أنه لا يستأنف الإشعاع الفلوري سوى جزء صغير من البروتينات. وهذا يعني أن كل بروتين مشع ربما يبعُد مسافةً تزيد عن ٠,٢ ميكرومتر عن أقرب بروتين مشع مجاور له، ومن ثَم يمكن التقاط صور عالية الدقة لكل بروتين منفردًا. بتكرار هذه العملية عدة مرات، وبتجميع الصور الناتجة معًا، أصبح ممكنًا أن تُلتقط صورٌ ضوئية «نانوية» فائقة الدقة تبيِّن البنيات والتفاعلات التي دون حد الانحراف الذي وضعه آبي.



(ج) (ب) (أ)

شكل ٧-٤: التُقطت الصورة (أ) باستخدام التصوير المجهري التقليدي؛ والتُقطت الصورة (ب) للمنطقة نفسها، ولكن تحسَّنت دقَّتها باستخدام المجهر النانوي الذي ابتكره بيتزيج؛ والصورة (ج) تمديد إضافي للمنطقة داخل المربع المحدَّد. (لاحظ مقياس الرسم الذي بقيمة ٠٫٢ ميكرومتر، ما يدُل على مقدار حد الانحراف الطبيعي.)

منذ أن قدَّم بيتزيج هذه التقنيةَ للمرة الأولى عام ٢٠٠٦، طُوِّرت أشكال أخرى عديدة من الفحص المجهري الفائق الدقة (وفي ذلك المنهجية التي وضعها هيل)، ولكن الدافع من ورائها جميعًا هو ضرورة إبقاء غالبية الجزيئات بلون قاتم في أي إطار محدَّد من الصورة. لكن هذه الجودة الفائقة في الدقة أتت بتقييدٍ كبير. وهذا التقييد يتمثَّل في عدم إمكانية رؤية هذه الصور المذهلة عبْر المجهر؛ حيث إنها مركَّبة من عدة آلاف من الصور الفردية الملتقطة في نقاطٍ زمنية مختلفة. فالصورة في الشكل ٧-٤ استغرقت معظمَ اليوم في تكوينها.

على الرغم من ذلك، فإن هذه التقنيات معًا تنتج صورًا ورؤًى لا يمكن تصوُّرها حتى الآن بشأن تفاعلات الجزيئات الحيوية. فقد أتاحت لنا تصويرَ المسامِّ الفردية في سطح الخلايا، وإنزيمات بوليميراز الدي إن إيه المفردة التي تعمل بداخل جسيم التضاعف للخلية الحية، وترتيب البروتينات في سطح الخلايا العصبية. لكن الاكتشافات الأروع قد تنبُع من العمل على واحدة من أهم العمليات في الحياة؛ ألا وهي انقسام الخلية.

رؤًى فائقة الدقة لانقسام الخلية

انقسام السيتوبلازم — أو عملية انقسام الخلية — عملٌ ميكانيكي مذهل يشبه قطع بالون منفوخ إلى نصفين من دون ثقبه. وهذا التشبيه في محله تمامًا مع الوضع في الاعتبار

أن بعض البكتيريا تحافظ على ضغطٍ أسموزي يزيد عن ذلك الخاص بعشرين غلافًا جويًّا. ففي كل مرة تنقسم فيها الخلية، عليها أن تعثرَ على نقطة المنتصف الخاصة بها، وتبدأ في بناء جدار فاصل (يشار إليه باسم الحاجز الفاصل) وتراقب انشقاق الأغشية، مع الحرص طوال الوقت على أن تتلقى كلُّ خلية فرعية حصةً متساوية من الآلة الخلوية ونسخة متطابقة من الجينوم. يزيد العجب من هذه العملية متى علمت أن بعض البكتيريا تنفِّذ هذه المهمة كل عشرين دقيقة.

تختلف حقيقيات النوى عن بدائيات النوى في طريقة تنفيذهما لتحدي انقسام السيتوبلازم، وتحقيقًا للإيجاز ولتوضيح الدور الذي أسهم به الفحص المجهري الفائق الدقة في فهْم هذه الآليات، سأركِّز على بروتين واحد محوري في بدائيات النوى.

جرى التعرُّف على لاعب أساسي في عملية انقسام السيتوبلازم لدى البكتيريا حينما جرى تعطيل جين معيَّن. واستمرت البكتيريا الطافرة الناتجة في النمو حتى بعد النقطة التي تنقسم عندها بصورة طبيعية، وكوَّنت خلايا خيطية طويلة. والبروتين المُشفر بذلك الجين أُعطي اسم FtsZ (وهو اختصار لـ Filamenting temperature-sensitive mutant Z؛ أي، البروتين الطافر الخيطي الحسَّاس لدرجة الحرارة Z). وردت أولُ إشارة إلى دور هذا البروتين في أوائل تسعينيات القرن العشرين في دراسة خاصة بالتصوير المجهري الإلكتروني. فقد أُنتجت الأجسام المضادة استجابةً للبروتين FtsZ ووُسمت بجسيمات ذهبية، ما يعني أن ذلك الوسم الذهبي وكذلك البروتين يمكن التقاطهما بمجهر إلكتروني. أظهر هذا بوضوح مجموعةً من بروتينات FtsZ تلتف حول مركز خلية آخذة في الانقسام. ولما أُجريت دراساتٌ أخرى لاحقًا باستخدام الوسوم الفلورية والتصوير المجهري الضوئي على الخلايا الحية، بدا أنها تعزِّز ما عُرف فيما بعدُ باسم الحلقة Z، الملتفة حول خط المنتصف في الخلية. أدَّت هذه الملاحظات إلى افتراضِ أن حاجزًا فاصلًا تكوَّن عندما ارتبطت الحلقة Z بداخل غشاء الخلية ثم انقبضت. وذلك سَحب الغشاء للداخل ودفعه باتجاه مركز الخلية حتى كوَّن جدارًا كاملًا بين الخليتين الفرعيتين الوليدتين.

إن بساطة ووجاهة فكرة عمل الحلقة Z وكأنها حزام يُشد حول خَصر الخلية جعلتاها نظريةً جذابة. وقد بقيت كذلك بعض الوقت حتى عُثر على فجوات — بالمعنى الحرفي — في نظرية الحلقة Z. فلما طُورت تقنيات التصوير الفائق الدقة واستُخدمت في دراسة عمليات انقسام السيتوبلازم، أخذت تُظهر بانتظام فجواتٍ كبيرة في الحلقات Z، ما يعني أن البروتين FtsZ لا يمكنه تكوين نطاق ضيق حول وسط الخلايا.

في الوقت نفسه تقريبًا الذي كانت تتفكَّك فيه فرضيةُ الحلقة Z المقيدة، أظهرت دراسة أُجريت على الجزيئات الفردية من البروتين FtsZ سلوكًا غير متوقَّع. فقد رُصد البروتين وهو يكوِّن بوليمرات بدا حينها أنها تتحرَّك عبر سطح الأغشية الليبيدية. كان هذا الاكتشاف مفاجئًا على نحوٍ خاص؛ حيث إنه لم تكن توجد بروتينات حركية معروفة داخل البكتيريا، ومن ثَم لم يكن سهلًا تصوُّر ما الذي كان يدفع حركةَ بنيات بروتين FtsZ.

كشفت عمليات رصدٍ إضافية أن الجزيئات الفردية في بروتين FtsZ لا تتحرَّك في الحقيقة على الإطلاق. بل إن البنية تبدو وكأنها تتحرَّك فقط نتيجة آلية تسمَّى «طاحونة الدوس» (treadmilling). يحدُث هذا حينما ينمو خيطٌ بإضافة بروتين في أحد طرفَيه، وفي الوقت نفسه يسقط بروتين من الطرَف الآخر المنكمش، ما يعطي انطباعًا بالحركة. وبمزيد من تتبُّع بروتين FtsZ والبروتينات المرتبطة به، تبيَّن أن الغرض من هذا المركَّب لم يكن فرْضَ قوة مقيدة على الخلية وفصل الخليتين الفرعيتين. بل يبدو أن الحلقة Z المقسمة في الواقع تتكوَّن من بوليمرات FtsZ تحوم حول خط المنتصف للخلية وتحمل شحنة من البروتينات التي تصنع الغشاء، وفي الوقت نفسه تبني الحاجز الفاصل الذي يفصل بين الخليتين الفرعيتين في النهاية.

الهياكل الخلوية والبروتينات الحركية

الخلايا ليست مجرَّد أكياس بسيطة من السيتوبلازم والعضيات والجزيئات الحيوية الموجودة داخل غشاء. تُنظَّم كلُّ هذه المكوِّنات حول بنية ثلاثية الأبعاد تتسم بالتعقيد والديناميكية وتتكوَّن من خيوط مترابطة تُعرف باسم الهيكل الخلوي. يوفِّر هذا الهيكل دعمًا ميكانيكيًّا للخلية، ولكنه أيضًا يُعَد بمنزلة مسار داخل الخلايا تسلُكه البروتينات الحركية بحمولاتها. تتركَّب الهياكل الخلوية في حقيقيات النوى من ثلاثة أنواع من الخيوط. الخيوط المتوسطة أقلُّها من حيث الديناميكية، والهدف منها تقديم الدعم المادي في المقام الأول، وتتكوَّن هذه الخيوط من مجموعة متنوعة من البروتينات بناءً على وظيفة الخيوط. أما النوعان الآخران فهما أُنَيبيبات دقيقة (تتكوَّن من الوحدات الفرعية لبروتين التوبولين المبلمر) وخيوط دقيقة من الأكتين.

تستخدم بروتينات الميوسين الحركية خيوطَ الأكتين لإعادة تنظيم مواضع العضيات داخل الخلية (إن الأكتين والميوسين هما أيضًا المكوِّنان الأساسيان في الأنسجة العضلية). وفي الوقت نفسه، تُستخدم شبكة الأُنَيبيبات الدقيقة لنقل الحمولات الأصغر بكثير عبر

مسافات طويلة. تتسم الأنيبيبات الدقيقة (والخيوط الدقيقة) أيضًا بقطبية مميزة، ويلتزم نوعا البروتينات الحركية اللذان يجتازهما بقاعدة الاتجاه الواحد؛ حيث لا يتحرَّكان إلا في اتجاه واحد بطول الأُنيبيب. فبروتينات الداينين تحمل الشحنة من حافة الخلية باتجاه النواة في المركز، أما بروتينات الكينسين فتتولَّى رحلة العودة.

إن تعقيد أنظمة الهياكل الخلوية وحمولاتها والأدوار التي تسهِم بها في تنظيم الخلايا وانقسامها أثار مجموعةً من الأسئلة، وقد تبيَّن أن الإجابة عنها توفِّر مجالًا خصبًا على نحوٍ خاص لعلماء الفيزياء الحيوية للجزيئات الفردية.

وهنا، يتبادر سؤال إلى الذهن في الحال وهو: بما أن بروتينات الكينسين والداينين لا تتحرَّك إلا في اتجاه واحد بطول الأنيبيبات الدقيقة، فكيف تعود إلى نقاط بدايتها؟ توجد ثلاث إجابات محتملة وواضحة عن هذا السؤال، تتمثَّل الأولى في أنه بمجرد أن يصل البروتين إلى وجْهته، فإنه يمكن أن يتحلَّل ويُعاد تدوير أجزائه في أنظمة الأيض في الخلية. الإجابة الثانية تفترض أنه بمجرد أن يصل البروتين الحركي إلى وِجهته، فإنه ببساطة يخرج عن المسار ويذهب إلى حيث يكون مطلوبًا عبر الانتشار السلبي. الإجابة الثالثة تتمثَّل في أن بروتينات الكينسين تتطفَّل وتتحرَّك مع بروتينات الداينين، والعكس بالعكس. ونظرًا إلى وجود تباينات عديدة من بروتينات الكينسين والداينين في الخلية الواحدة، مع زيادة تلك التباينات حتى أكثر في عالم الأحياء برمته، فإن هذه الإجابات لا يعارض بعضها بعضًا، بل إن هناك دليلًا على وجودها جميعًا، ولكنَّ بعضًا من أكثر الدراسات إثارةً للاهتمام تركِّز على الاحتمال الثالث، وعلى الشد والجذب الواضحين بين البروتينات الحركية.

إحدى الدراسات الرائعة على وجهٍ خاص دراسةٌ أعادت تكوين نظام نقل خاص ببروتينات الكينسين والداينين من الخميرة، وتتبَّعتْ حركة البروتينات باستخدام وسوم فلورية والفحص المجهري للجزيئات الفردية. وقد رصد العلماء بروتينات الكينسين والداينين الحركية وهي تتحرَّك في اتجاهين معاكسين بطول الأنيبيبات الدقيقة، وهو ما كان متوقعًا بالضبط. وحينما أُضيف بروتين يسمَّى Lis1 إلى الخليط، ربط البروتينات الحركية بعضها ببعض. ومن هنا بدأ الشدُّ والجذب بين البروتينات التي يصارع بعضها بعضًا للوصول إلى الأطراف المعاكسة من الأنيبيبات الدقيقة. لكن حُل المأزق بمساعدة بروتينين آخرين مرتبطين بالأنيبيبات الدقيقة، بدا أنهما أعطيا بروتين الكينسين «دعمًا» إضافيًّا. وهذا الدعم الإضافي ساعد الكينسين على التغلُّب على الداينين والانتصار عليه. ومن ثَم تقترح هذه الدراسة الرائعة إمكانية إعادة تدوير البروتينات الحركية بعضها ببعض، وذلك مع تحديد اتجاه السَّير الذي تسلكه من قبلُ بروتينات صغرى أخرى.

الفِخاخ والملاقط الضوئية

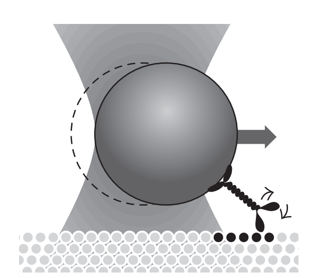
حتى هذا الحد في الفصل الذي بين أيدينا، وجَّهت تركيزي إلى أكثر تقنيتين مفيدتين في مراقبة الجزيئات الفردية أثناء عملها داخل الخلايا. وقد تعمَّدت تجاهُل التقنيات الأخرى الخاصة بالجزيئات الفردية؛ لأنها عادةً ما تكون مستخدَمة عند إجراء الدراسة في أنابيب الاختبار في المختبرات. لكن هناك طريقة تستخدم ما يُعرف بالملاقط الضوئية، وهذه الطريقة توفِّر لنا وسيلةً للانتقال من إجراء الدراسة خارج أنابيب الاختبار إلى إجرائها داخل الوسط الحيوي.

كانت الأشعة الجاذبة وقدرتها الواضحة على استخدام الإشعاع الكهرومغناطيسي لتحريك الأجسام المادية المحرِّكَ الأساسي لقصص الخيال العلمي. لكن يتضح الآن أن الفكرةَ ربما لم تَعُد مقتصرة على عالَم الخيال. كان قد طرح جيمس كليرك ماكسويل أساسًا نظريًّا للضوء الذي يمارس ضغطًا ماديًّا على جسمٍ ما، وذلك في عام ١٨٧٣. ولكن بما أن القوى المعنية بالغة الضَّعف، استغرق الأمر ١٣٠ عامًا أخرى قبل أن يكون بالإمكان اختبار توقعات ماكسويل والتحقق منها. وفي ستينيات القرن العشرين، ظهرت تقنيةُ الليزر، التي وُصفت حينذاك بأنها «حلٌّ يبحث عن مشكلة». فيما بعد، تبيَّن أن هذه التقنية لها استخدامات متنوعة، بدايةً من الإشارة إلى الشرائح في العروض التقديمية وحتى مسح الأكواد الشريطية والتلاعب بالجزيئات الحيوية الفردية. وبمرور الوقت، اتضح أن تقنيات الليزر، بأشعَّتها المركَّزة والمكثَّفة للغاية، وفَّرت أخيرًا الوسيلةَ التي يمكن من خلالها للضوء توليدُ الضغط الذي يمكن استخدامه بطرقٍ لم تكن متاحة حينها إلا لأبطال أعمال الخيال العلمي مثل جيمس تي كيرك.

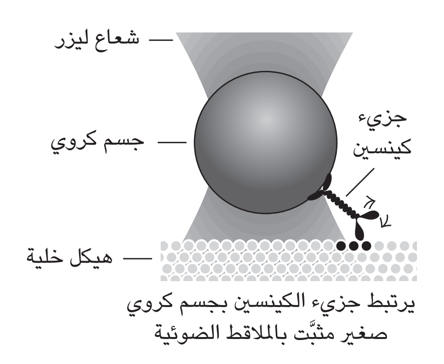
الرائد في مجال التلاعب بالأجسام باستخدام الضوء كان آرثر أشكين (وهو عالِم آخر حاصل على جائزة نوبل، ولكن هذه المرة في الفيزياء عام ٢٠١٨). ففي أحد أوائل إنجازاته، تمكَّن من رفع جسيم عن طريق الموازنة بين القوة الرافعة لضوء الليزر وسَحب الجاذبية لأسفل. وفيما بعد، بيَّن أن القوى المجمَّعة للشعاع المركَّز سحبت جسيمًا إلى نقطته البؤرية، وكانت هناك قوة كافية للتغلُّب على الحركة البراونية. هذا فعليًّا ثبَّت الجسم عند نقطة في الفضاء يحدِّدها موضع شعاع الليزر، ما يكوِّن فخًّا ضوئيًّا. وعليه، فإنه يمكن استخدام الليزر باعتباره «ملاقط ضوئية» (انظر الشكل ٧-٥) من أجل «التقاط» الجسيمات وتحريكها عن طريق تغيير النقطة البؤرية لليزر. وبإدخال مزيد

من التطوير على التقنية، أُتيحَ قياسُ القوى المبذولة على الملاقط الضوئية. وهذا يعني أنه أصبح ممكنًا قياس قوة الجذب لمحرك جزيئي فردي.

جزيء حركي يتحرَّك داخل الفخ الضوئي



يتحرَّك جزيء الكينسين بعيدًا بطول هيكل الخلية. إنه يسحب الجسم الكروي، ما يتيح قياس الحركة التدريجية لجزيء الكينسين



يرتبط جزيء الكينسين بجسم كروي صغير مثبَّت بالملاقط الضوئية

شكل ٧-٥: الملاقط الضوئية التي تتتبَّع المحركات الجزيئية.

في عام ١٩٩٣، استُخدمت الملاقط الضوئية للرصد المباشر لطريقة تحرُّك جزيء كينسين. حينها، زيَّن كاريل سفوبودا وستيفين بلوك وزملاؤهما حبيبات سيليكا بجزيء كينسين، ثم استخدموا الملاقط الضوئية لإيداعها في أنيبيبات دقيقة ثابتة. وذلك أتاح لسفوبودا وزملائه أن يتلاعبوا بالحبيبات ويقيسوا القوةَ التي ينتجها جزيء الكينسين. بذل كل جزيء قوةً تبلغ ٥ بيكونيوتن وتحرَّك بخطوات مميزة يبلغ طولها ٨ نانومترات بطول مسار الأنيبيبات الدقيقة.

وعلى مدى السنوات التي تلت العملَ الرائد لسفوبودا وزملائه، استُخدمت الملاقط الضوئية لمراقبة مجموعة من العمليات الكيميائية الحيوية، ومنها حركة المحرِّكات الجزيئية الأخرى، والبروتينات التي تشقُّ طريقها بطول الدي إن إيه، والقوى الداخلة في طي البروتينات وفكِّ طيِّها. بعد ذلك، تطوَّرت الفِخاخ الضوئية لدرجة أنه يمكن استخدامها الآن لتتبُّع الجزيئات التي تتحرَّك بطرقٍ متماثلة داخل الخلايا.

تمثَّل التحدي الأساسي لعمل الفِخاخ الضوئية داخل الأوساط الحيوية في التغلُّب على الضوضاء في الخلفية وتشتُّت الضوء المتولدَين من باقي مكوِّنات الخلية. وعندما جرى التغلُّب على تلك العقبة التقنية، لم تتغيَّر طريقة عمل التقنية.

اتضح أن الشحنات الخلوية غالبًا ما تحتوي على بروتينات داينين وكينسين حركية مرتبطة بها، ما يؤثِّر في طريقة تشغيل الخلايا لشبكات النقل الخاصة بها. والفِخاخ الضوئية في الأوساط الحيوية قد ألقت الضوءَ على الشد والجذب بين الداينين والكينسين. تضمَّنت دراسة من أولى الدراسات التي تندرج ضمن هذا النوع امتصاصَ الخلايا للحبيبات المزينة ببروتينات الكينسين والداينين (عبر عملية طبيعية تسمَّى الالتقام الخلوي) التي تلاعبت بها الملاقط الضوئية بعد ذلك. توصَّلت الدراسة إلى أن الكينسين والداينين في الوسط الحيوي يتحرَّكان بقوًى مماثلة جدًّا لتلك المؤثِّرة على حركتهما في أنبوب المختبر. لكن حينما يجرُّ البروتينان الجسيماتِ نفسها، تصبح التفاعلات أعقدَ. وعندما يسود الداينين، فإنه يحمل حمولته بطول الأنيبيب الدقيق من دون أن يكون للكينسين أيُّ تأثير واضح. فمن المفترض أن يكون الكينسين بمنزلة شريك سلبي حيث ينفصل عن الأنيبيب الدقيق ويُحمل بطول المسار. لكن حينما يكون الكينسين هو القائد، يبدو أن الداينين يبدي بعضَ المقاومة؛ حيث إنه يتحرَّك إلى الخلف بطول الأنيبيب الدقيق. والافتراض هو أن هذا التفاعل قد يساعد في توصيل الشحنات إلى مواقع محددة داخل الخلايا.

استهللت هذا الفصل بسرد فوائد الدراسات الخاصة بالجزيئات الفردية من منظور علماء الكيمياء الحيوية، والذي يركِّز على تحديد أبعاد شبكة التفاعلات بين الجزيئات. لكنني أشرت إلى الفيزياء الحيوية كذلك، وأحد الأسباب التي دفعتني لذلك هو أن التقنيات المذكورة في هذا الفصل تستخدم العديد من مبادئ الفيزياء. وهكذا، نكون قد بدأنا أيضًا في تضمين منظور عالِم الفيزياء للجزيئات الحيوية، وعلماء الفيزياء يحبون قياسَ التفاعل من حيث القوى المعنية. ومن ثَم، فإن العديد من تقنيات الجزيئات الفردية لا توضِّح لنا كيفية تفاعل الجزيئات فحسب، بل تبيِّن أيضًا القوى المشتركة في تفاعلاتها. بفضل هذه التقنيات، بتنا نعلم أن بروتين كينسين الحركي يبذل قوةً مقدارها ٥ بيكونيوتن، وأنه بالإمكان فك طي بروتين عبر سَحب طرفيه بقوة تبلغ ١٢ بيكونيوتن تقريبًا، وأن إنزيم بوليميراز الدي إن إيه يحوِّل التحلل المائي للأدينوسين الثلاثي الفوسفات إلى قوة تزيد على ٥٠ بيكونيوتن. وهذه الرؤى تغيِّر طريقةَ تفكيرنا في المواد الحيوية المجهرية، وتجعلنا ندرك أن القوة عامل يشكِّل العمليات الحيوية.

الفصل الثامن

التكنولوجيا الحيوية وعلم الأحياء التخليقي

تناول الجزء الأكبر من هذا الكتاب الكيمياء الحيوية «الطبيعية». لكن كلما زادت معرفتنا بعالَم الكيمياء الحيوية، بدأنا التفكير في الكيفية التي قد نطوِّعه بها من أجل مصلحة البشر. ومن هنا نشأ مجالٌ يُطلق عليه في كثير من الأحيان التكنولوجيا الحيوية، وفي الآونة الأخيرة علم الأحياء التخليقي. لا يزال ما يحتويه هذا المجال قيدَ التعريف على الرغم من المحاولة الجيدة المبذولة من جانب جمعية لندن الملكية عندما وصفت علم الأحياء التخليقي بأنه يسعى إلى «تصميم وإنشاء مسارات أو كائنات أو أجهزة حيوية اصطناعية جديدة، أو إعادة تصميم الأنظمة الحيوية الطبيعية».

من الواضح أن النطاق الصغير جدًّا لعلم الأحياء التخليقي والمسارات والكائنات المتضمنة في هذا التعريف قائمة على المعرفة المستقاة من الكيمياء الحيوية. لكن فلسفته تتفق مع مبادئ الهندسة أكثر من اتفاقها مع مبادئ العلوم البحتة. وقد أصبح من الشائع الآن أن نرى دورة التطوير الهندسي المكوَّنة من «التصميم والبناء والاختبار والتحسين» مطبَّقة على النطاق الصغير جدًّا جنبًا إلى جنب مع الرغبة في الحصول على مخرجات نمطية وموحَّدة. وبالفعل شهدنا البداية في الأمثلة التي تناولناها بالفعل مثل البروتين الفلوري الأخضر وتفاعل البوليميراز المتسلسل وتقنيات تحديد تسلسل الدي إن إيه. ومنذ ظهور هذه التقنيات في ثمانينيات القرن العشرين، أُحرزت خطوات كبيرة، مع إنشاء الجينومات التخليقية وإعادة تشفير الشفرات الجينية وإنشاء الآلات النانوية المصمَّمة من البروتينات، وغير ذلك الكثير. ولا يوجد مقياس لمدى التقدُّم في هذا الشأن أفضل من التغيير في تكلفة تحديد تسلسل الدي إن إيه. فقد حقَّق مشروع الجينوم البشري هدفَه المتمثل في تحديد تسلسل الجينوم البشري عام ٢٠٠٣ بتكلفة بلغت ٢٫٧ مليار دولار. وبعد أقل من عشرين عامًا، توجد شركات تنجز العملَ نفسه بتكلفة تبلغ أقلَّ من ألف دولار للجينوم. وهناك

ارتباط مثير للاهتمام بين انخفاض تكلفة قدرات المعالجة الحاسوبية التي لا تتوقَّف عن التوسع، وانتشار استخدام أجهزة الكمبيوتر وخفض التكاليف في التكنولوجيا الحيوية. لذا في هذا الفصل الأخير، سنلقي نظرة على المزيد من الأمثلة الخاصة بالكيمياء الحيوية التخليقية والفرص التي تحملها بين طياتها، وسندرس بإيجازٍ ما يمكن أن يبشِّر به هذا المجال الجديد.

الجينومات والكائنات التخليقية

إذا كان هناك شخصٌ يمكن أن يكون خيرَ ممثِّل لعلم الأحياء التخليقي، فربما هو كريج فينتر. إنه لم يكتفِ بقيادة فريق خاص كُلف بتحديد تسلسل جينوم بشري (والذي قد تبيَّن أنه الجينوم الخاص به)، بل إنه قبل ثلاث سنوات من الموعد المتوقَّع لإكمال هذه المهمة المنوطة بمشاريعَ ذات تمويل حكومي وضعَ أيضًا نُصب عينيه إنشاء كائنات تخليقية.

خاض فريق فينتر — الذي كان يعمل في معهد جيه كريج فينتر — غمارَ هذا التحدي بالبدء بكائن حي بسيط للغاية ألا وهو بكتيريا المفطورة الفطرانية. ولما كان جينوم هذه البكتيريا يتضمَّن حوالي ألف جين مشفَّر بحوالي مليون زوج من القواعد (في مقابل نحو خمسة ملايين زوج في بكتيريا الإشريكية القولونية وثلاثة مليارات زوج في البشر)، فقد بدا أنها نقطة انطلاق سهلة التحكم يمكن بناء شكل من أشكال الحياة الاصطناعية عليها. لكن قبل أن يكون بإمكان الفريق خوض غمار هذه المغامرة، احتاج أولًا إلى معرفة هل الجينوم المخلَّق اصطناعيًّا بالكامل يمكن أن تقوم عليه خلية أم لا. لذا فقد أعادوا تصميم الجينوم الذي يحتوي على كل الجينات في بكتيريا المفطورة الفطرانية الأصلية، بالإضافة إلى بعض التسلسلات «ذات العلامات المائية» التي جرى تضمينها، على حدِّ ما ورد في ورقتهم البحثية التي نُشرت في مجلة «ساينس»، من أجل التمييز بين الجينوم التخليقي والجينوم الطبيعي. (وربما بهدف التسلية فقط، تضمنت إحدى العلامات المائية تسلسلًا إضافيًّا للدي إن إيه، والذي عند ترجمته إلى شفرات أحماض أمينية أحادية الحروف، تبيَّن أنها تحمل الحروف CRAIGVENTER.) ومع تطور المشروع، أُدرجت علامات مائية مشفرة على نحوٍ أكثر تعقيدًا. كانت إحدى هذه العلامات تكريمًا للعالم ريتشارد فاينمان العظيم؛ إذ اقتبَست كلماته الأخيرة التي تُركت على سبورته بعد مماته والتي تقول: What

I cannot build, I cannot understand (أي، ما لا أستطيع خلقه، لا أستطيع فهْمه). أصبح هذا الاقتباس إلى حد كبير الشعارَ الأساسي لعلماء علم الأحياء التخليقي.

بحلول عام ٢٠١٠، أُنشئ الجينوم التخليقي JCVI–syn1.0 (وهو اسمٌ يشبه أسماء برامج الكمبيوتر، وينسب إلى المعهد الذي أُنشئ فيه)، وأصبح جاهزًا للزرع في «غلاف» خالٍ من الدي إن إيه مشتق من بكتيريا أخرى تسمَّى المفطورة العنزية. على الفور، سيطر الجينوم المزروع حديثًا على الآلة الخلوية لدى البكتيريا المضيفة، ومعًا أصبحا بكتيريا ذاتية التضاعف وقابلة للنمو على نحو كامل. وعلى الرغم من هذا الإنجاز الكبير، فإن الجدال كان محتدِمًا بشأنِ ما إذا كان النظام الجديد يُعَد في واقع الأمر كائنًا اصطناعيًّا أم لا؛ حيث إن الجينوم كان إلى حد كبير نسخةً من الجينوم الطبيعي.

قطعت المرحلة الثانية للمشروع شوطًا في دحض هذا الاعتراض. فقد شرع الفريق في تقليص الجينوم تدريجيًّا ومنهجيًّا لتحديد الحد الأدنى من عدد الجينات اللازم لاستمرار العمليات الحيوية لدى أي كائن حي. وبحلول عام ٢٠١٦، تقلَّص حجم الجينوم — الذي قد جرى تحديثه إلى JCVI–syn3.0 — إلى ما يزيد على النصف وأصبح لا يحتوي إلا على ٤٧٣ جينًا. ومع ذلك، كانت لا تزال البكتيريا المضيفة قابلةً للنمو. ولما كان تصميم هذا الجينوم ينطوي على إعادة تنظيم محتوياته وانتقائها اصطناعيًّا (حتى وإن لم يُعَدْ تشفير الجينات الفعلية)، فلا ضيرَ من قول إن بكتيريا «المفطورة المختبرية» (التي يُطلق عليها أحيانًا سينثيا) — والتي تشغل الآن «البرنامج» الاصطناعي الجديد — يمكن اعتبارها في الحقيقة شكلًا من أشكال الحياة الحيوية الاصطناعية. العجيب أن الفريق حاول أيضًا أن يعيد تنظيم مخطَّط الجينات بالكامل في بكتيريا سينثيا، ولكنهم وجدوا أن هذا غير ممكن في جزء كبير من الجينوم. وهذا الإخفاق يقول شيئًا مهمًّا ألا وهو: إن موضعَ الجينات بعضها بالنسبة إلى بعض عاملٌ مهم للغاية حتى وإن كان غير مفهوم حتى الآن. ولا بد من فهْم هذا العامل إذا كنا نريد تحديدَ القواعد التي تحكم هندسةَ الجينوم وتصميمه.

من السهل أن يتشتَّت انتباه المرء بهذا الكم الهائل من ضروب الإنجازات، وينسى أن الهدف النهائي الذي كان يسعى إليه فينتر وغيره من الباحثين في مجال علم الأحياء التخليقي، هو إنشاء كائنات حية مصمَّمة لحل مشاكل العالم الواقعي. يتمثَّل نهج فينتر في تقليص تعقيد الحياة إلى أدنى حد ممكن لها، ثم استخدام الناتج باعتباره أساسًا تُبنى عليه الكائنات الحية المصممة لإنتاج الوقود الحيوي والمنتجات الدوائية وغيرها من المواد. لكن اتخذ علماء آخرون نهجًا أقلَّ درامية وسعَوا إلى تعديل المسارات الكيميائية الحيوية في الكائنات الحية الموجودة.

سنورد مثالًا رائعًا من ورقةٍ بحثية نُشرت وأنا في خضم كتابة هذا الفصل. إنها تتناول كيف أن بكتيريا الإشريكية القولونية يمكن هندستها بحيث تمتص غاز ثاني أكسيد الكربون. معروف أن بكتيريا الإشريكية القولونية غيرية التغذية، ما يعني أنها بحاجة إلى أن تستهلك مصادرَ أخرى من الكربون العضوي كي تنمو. وعلى النقيض من ذلك، فإن النباتات وبعض أنواع البكتيريا ذاتية التغذية؛ بمعنى أنها قادرة على امتصاص ثاني أكسيد الكربون من الغلاف الجوي وتحويله إلى كتلة حيوية عضوية. وقد رأينا في مواضعَ سابقة من هذا الكتاب كيف تحقِّق هذه الكائنات ذلك باستخدام الأنظمة الضوئية ودورة كالفن.

تطلَّبت عمليةُ تحويل بكتيريا الإشريكية القولونية من كائنات غيرية التغذية إلى كائنات ذاتية التغذية ثلاث خطوات. أولًا، لا يدخل في تكوين بكتيريا الإشريكية القولونية إنزيمات قادرة على تثبيت ثاني أكسيد الكربون، ومن ثَم أُدخل إلى بكتيريا الإشريكية القولونية جينات تُشفر الإنزيمات داخل دورة كالفن، أُخذت من بكتيريا ذاتية التغذية تسمَّى «الزائفة». ثانيًا، جرى تعطيل ثلاثة من الجينات المركزية في أيض الكربون في البكتيريا المضيفة، ومن ثَم أصبح نمو البكتيريا معتمدًا على إنزيمات غير أصلية. عندئذٍ، حدثت مشكلة لأن إنزيمات بكتيريا الزائفة — التي تعبِّر عنها جيناتٌ جديدة — غريبة على بكتيريا الإشريكية القولونية، ومن ثَم أخفقت في التكامل مع عملية الأيض لدى البكتيريا المضيفة. لم تكن هذه مفاجأة لأن البكتيريا كانت قد تطورت بحيث تنمو عبر التغذية على الغير؛ وإن توقُّع استخدامها مصدر الطاقة الجديد على الفور يشبه وضعَ وقود الديزل في محرِّك بنزين والاندهاش عندما لا يعمل.

لكن بخلاف المحرِّكات الميكانيكية، فإن الكائنات الحية بإمكانها التكيُّف مع الظروف المحيطة بها. ومن أجل دفع بكتيريا الإشريكية القولونية نحو التحوُّل إلى مصدر الوقود الجديد، جرَت ممارسة ضغط تطوري على نظام الأيض المعاد تصميمه. أُبقيت البكتيريا المعدَّلة في حالةٍ ثابتة من التجويع شبه التام، ولكن في بيئة غنية بثاني أكسيد الكربون. وفي ظل هذه الظروف، كان مصدر الكربون الوحيد لتراكم الكتلة الحيوية هو ثاني أكسيد الكربون، وكانت الوسيلة الوحيدة للوصول إليه هي إنزيمات دورة كالفن غير الأصلية. وبعد ٢٠٠ يوم من الوجود في هذه الظروف، راكمت البكتيريا إحدى عشرة طفرة، ما أتاح للإنزيمات الغريبة أن تتكامل مع مسارات الأيض لدى بكتيريا الإشريكية القولونية. كان الناتج نوعًا جديدًا من بكتيريا الإشريكية القولونية، تمخَّض من رحمِ الجمع بين الهندسة والتطوُّر الموجَّه، واعتمد اعتمادًا كاملًا على ثاني أكسيد الكربون من أجل كتلته الحيوية.

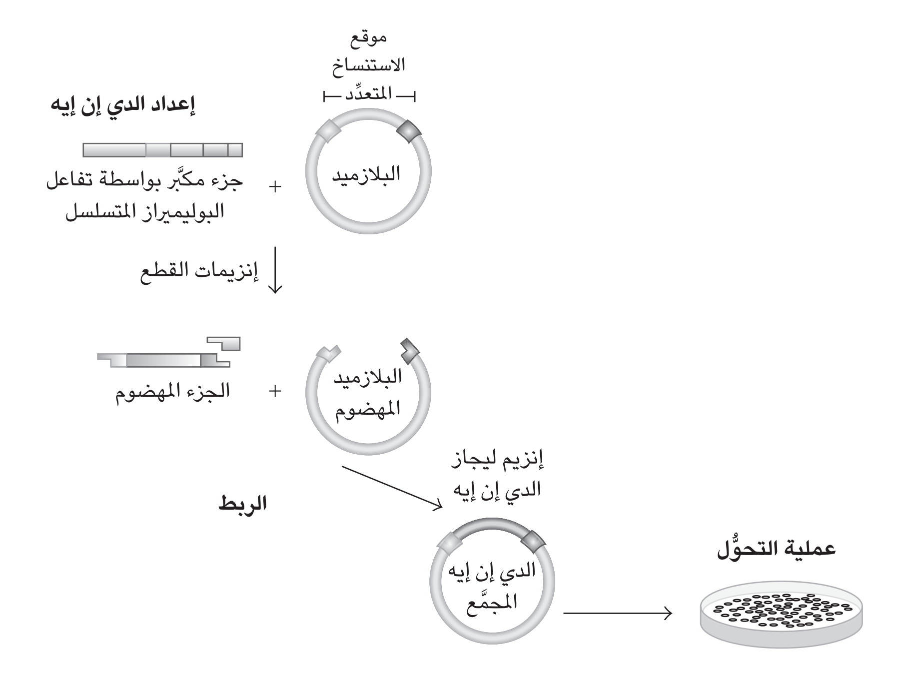
تعديل الجينات

البروتينات هي الآلات الجزيئية للحياة؛ ولذا فهي أيضًا المحور الأساسي لهندسة الجزيئات الحيوية. لكن التلاعب بها مباشرةً أمرٌ محفوف بالمخاطر. والأمر الأبسط بكثير هو تعديل الجينات المسئولة عن تشفير البروتينات ونقلِها.

على مدى سنوات عديدة، كانت الطريقة الأساسية لنقل الجينات وتعديلها تستخدم فئةً من البروتينات تسمَّى إنزيمات القطع. تُشتق هذه الإنزيمات من البكتيريا؛ حيث إن لها دورًا في الدفاع ضد عدوى العاثيات (وهي الفيروسات التي تهاجم البكتيريا)، وذلك عن طريق قَطع الدي إن إيه للكائنات الغازية. ولإنجاز هذه المهمة، وفي الوقت نفسه تحاشي قطع الدي إن إيه الخاص بها، فإن إنزيمات القطع بوجه عام تميز تسلسلات دي إن إيه متناظرة محدَّدة. على سبيل المثال، أحد أشيع إنزيمات القطع المستخدمة والمعروفة باسم HindIII تميز التسلسل AAGCTT والتسلسل التكميلي TTCGAA (والذي هو أول تسلسل عكسي، ومن ثَم فهو متناظر). تقطع إنزيمات HindIII من بين قاعدتي الأدينين في شريطي الدي إن إيه، ومن ثَم تترك امتدادات متبقية من دي إن إيه أحادي الأشرطة. وفي الوقت نفسه، يوجد إنزيم آخر شائع الاستخدام، وهو إنزيم EcoRI الذي يبدأ الشق من بعد قاعدة الجوانين في تسلسل الدي إن إيه GAATTC.

تبيَّن أن هذه السِّمة مفيدة إلى أقصى حد في التلاعب الجيني، لا سيما في البكتيريا. وكثيرًا ما يدخل في تكوين البكتيريا بنيات جينية صغيرة يمكن أن تتضاعف على نحوٍ مستقل عن الدي إن إيه الكروموسومي. هذه البنيات — التي تسمَّى البلازميدات — ناقلاتٌ مفيدة تحمل المادة الوراثية إلى البكتيريا. وهذا بالضبط هو الغرض الذي تستخدمها البكتيريا لتحقيقه. على سبيل المثال، تتشارك البكتيريا جينات مقاومة المضادات الحيوية عن طريق نقل البلازميدات بعضها إلى بعض. ويستخدم العلماء هذا الميل إلى نقل البلازميدات من أجل التلاعب بجينات البكتيريا.

وفي الوقت الراهن، يمكن شراء بلازميدات اصطناعية مزوَّدة بمنطقة تُعرف باسم موقع الاستنساخ المتعدِّد، تحتوي على سلسلة من تسلسلات هضم إنزيمات القطع (انظر الشكل ٨-١). يوضع موقع الاستنساخ المتعدِّد هذا قبل التسلسلات المحفزة مباشرةً. وهذا يعني أنه عندما يدخَل جين في موقع الاستنساخ المتعدد، تبدأ آلة التضاعف في العمل ويئول أمرُ البكتيريا إلى إنتاج البروتين المشفَّر بالجين. إن هذه هي العملية التي حُثت بها البكتيريا على إنتاج مجموعة من البروتينات المفيدة مثل هرمونات النمو والإنسولين والمنفحة.



شكل ٨-١: استراتيجية استنساخ الجين باستخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل والبلازميدات وإنزيمات القطع.

لإدخال جين إلى البلازميد، ينبغي تحديد موقع إنزيم القطع المطلوب أولًا. وفي الوقت الراهن، نحن نعرف حرفيًّا مئات إنزيمات القطع، والتي معظمها متوفر تجاريًّا. بعد ذلك، يُستخدم تفاعل البوليميراز المتسلسل لعمل نسخٍ من الجين ذي الصلة، وتُدرَج مواقع إنزيمات القطع داخل بادئات الدي إن إيه. عندئذٍ تندمج هذه في ناتج عمليات تفاعل البوليميراز المتسلسل. وحينها تقطع إنزيمات القطع البلازميدات والجين المتضاعف الآن بفعل تفاعل البوليميراز المتسلسل. ستحتوي أطراف القطع لكل أجزاء الدي إن إيه هذه على تسلسلات متبقية، كلها تحتوي على تسلسلات تكميلية تساعدها على أن يرتبط بعضها ببعض. تتحقَّق الخطوة الأخيرة الخاصة بربط أجزاء الدي إن إيه عبر إضافة إنزيم ليجاز الدي إن إيه. عندئذٍ، تُحث البكتيريا (في عملية تسمَّى التحوُّل) على تقبُّل البلازميد الذي يحتوي على الجين الجديد.

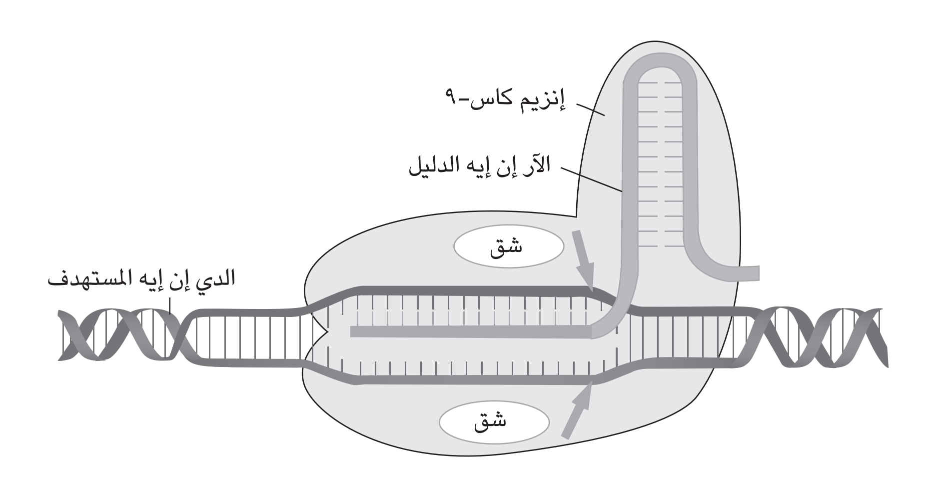
ظلت طريقةُ إنزيمات القطع هذه الخاصة بتعديل الدي إن إيه مستخدمةً لعدة عقود، ولكنها مرهقة ومحدودة. لا شك أن إنزيمات القطع مفيدةٌ إلى أقصى حد، ولكنها تشبه إلى حدٍّ ما امتلاك مئات من خيارات «القص واللصق» في برنامج معالجة النصوص الخاص بك، وكل خيار محدد لكلمة واحدة فقط. لكن توافر أداة أكثر تنوعًا للقص واللصق سيفيد أكثر بكثير.

تقنية كريسبر

في السنوات الأخيرة، ظهرت تقنية جديدة قوية لتعديل الجينات تسمَّى كريسبر (وهو اختصار للتكرارات العنقودية المتناظرة القصيرة المنتظِمة التباعد). وعلى خلاف إنزيمات القطع، فإنها تتيح وظيفتي «القص واللصق» و«البحث والاستبدال» بنحوٍ أو بآخر في أي جزء من تسلسل الدي إن إيه داخل جينوم الخلية. نتائج هذه التقنية هائلة. جرى استخدام التقنية بالفعل في إزالة جينات فيروس نقص المناعة البشرية من خلايا بشرية مصابة، وإزالة الجينات المتحورة التي تسبِّب المرض، وتحفيز الجين الخاص بالنسخة الجنينية من الهيموجلوبين، وعلاج المصابين بداء الخلايا المنجلية، وتعديل أعضاء الحيوانات بهدف جعلها قابلةً للزرع في الإنسان.

بدأت قصة تقنية كريسبر عام ١٩٨٧ عندما لاحظ يوشيزومي إشينو وزملاؤه تكرار تسلسلات دي إن إيه متناظرة مكوَّنة من ثلاثين قاعدة تقريبًا في بكتيريا الإشريكية القولونية. بجانب التسلسلات المتناظرة، كانت هناك تسلسلات شديدة التباين ذات نمط صغير يمكن تمييزه. لم يكن لدى الفريق أيُّ فكرة عن الغرض من تلك السِّمة الغريبة في الجينوم، لكنهم نشروا النتيجة، ثم لم يفكِّروا كثيرًا في الأمر. وعلى مدى العَقد التالي أو نحو ذلك، ظهرت أنماطٌ مماثلة في أنظمةٍ أخرى من بدائيات النوى، ومن ثَم زاد الاهتمام بها. أتى الأمر الذي ساعد في توضيح وظيفتها من مقارنة مناطق التسلسل المتباينة بتسلسلات دي إن إيه معروفة أخرى وتبيَّن أنها متماثلة مع جينات العاثيات. ومن هنا، بدأت نظرية في الظهور مُفادها أن تسلسلات كريسبر هذه كوَّنت جزءًا من نوعٍ ما من نظام مناعة تكيفي. اختُبرت النظرية حينما أُدخل دي إن إيه عاثية معينة في المنطقة المتباينة، وكما كان متوقعًا، فإن البكتيريا التي تحتوي على منطقة كريسبر المحدَّدة حديثًا هذه أصبحت مقاومة لتلك العاثية.

بعد ذلك، رصد العلماء جينات تشفر إنزيمات هيليكاز ونيوكلياز (وهي البروتينات التي تقطع الأحماض النووية) تظهر بالقرب من مناطق كريسبر (وأصبحت تلك الجينات معروفة باسم جينات كاس (CAS) أو الجينات المرتبطة بكريسبر؛ انظر الشكل ٨-٢). اتضح أن تسلسلات كريسبر المتناظرة عند نسخها إلى الآر إن إيه تكوِّن بنيات ثانوية على هيئة دبوس الشَّعر. يتعرف أحدُ بروتينات كاس وهو كاس-٩ (CAS9) على عمود دبوس الشَّعر ويرتبط به، ويقدِّم التسلسل المتباين بطريقة تجعله حرًّا للارتباط بالدي إن إيه أو الآر إن إيه الفيروسي التكميلي الذي حقنته العاثية في الخلية. وهنا، يوجِّه تسلسل الآر إن إيه بروتين كاس إلى جينات العاثية؛ ولذا أصبح معروفًا باسم الآر إن إيه الدليل. عندما يرتبط الآر إن إيه الدليل بالجينات الفيروسية المستهدفة، فإنه يضع موقع تنشيط نيوكلياز كاس بالقرب من المادة الوراثية الفيروسية الغازية، ما يتيح للبروتين أن يخترق شريطَي الدي إن إيه الفيروسي، ومن ثَم يمنع العدوى من إكمال مساراتها. لكن بالطبع لا تؤتي هذه العملية ثمارها إلا إذا كان لدى البكتيريا سجل من المادة الوراثية الفيروسية في إحدى المناطق الفاصلة. ولعمل هذا السجل، تتعرف فئة أخرى من بروتينات كاس على الدي إن إيه الوارد، وتقطع شقًّا وتدخله بين التسلسلات المتناظرة. وبذلك، تحتفظ البكتيريا بـ «ذكرى» عن العدوى، ما يتيح لها أن تستجيب بسرعةٍ أكبر في المستقبل.



شكل ٨-٢: نظام كريسبر-كاس-٩.

بمجرد أن أصبحت آليات كريسبر وكاس معروفة، أدرك الباحثون — لا سيما جنيفر داودنا، وإيمانويل شاربنتيه (اللتان حصلتا معًا على جائزة نوبل في الكيمياء عام ٢٠٢٠) وفيرجينيوس شيكشنيس — أنه يمكن برمجة النظام وهندسته بحيث يقطع أيَّ تسلسل للدي إن إيه، وهذا بمجرد استبدال تسلسل كان تكميليًّا لجين معيَّن بالتسلسل الفاصل الطبيعي. وذلك أتاح لهم الدقة في استهداف أي جين وتعطيله. ولذا، فإن التقنية مثالية في تعطيل أي جين به خلل. لكن كيف هو الحال إذا كنا نريد استبدال تسلسل سليم بذلك الجين؟ لتحقيق ذلك، عدَّل العلماء عمليةً كيميائية حيوية طبيعية تسمَّى الإصلاح الموجَّه بالتماثل.

يسهُل إصلاح القطع في الشريط المنفرد من الدي إن إيه؛ يعمل الشريط التكميلي بمنزلة جَبيرة تُمسك كل شيء مع بعضه إلى أن يصلح إنزيم ليجاز القطع. لكن القطع في الشريطين، والذي كثيرًا ما تتسبَّب فيه عوامل بيئية مثل الأشعة فوق البنفسجية أو المواد الكيميائية أو تقنية كريسبر، أشقُّ بكثير من القطع في شريط واحد. لا توجد صعوبة في إعادة ربط الأطراف، لكن ماذا لو كان هناك أكثر من قطع وفُقد جزء من الدي إن إيه؟ حينها، قد يؤدي القطع إلى تضرر أحد الكروموسومات وإعادة تنظيم الجينوم وجينات معطَّلة أو غير منتظمة، ما يؤدي إلى موت الخلايا أو قد يسوء الأمر وتتحوَّل إلى خلايا سرطانية. ما تحتاج إليه الخلية هو نسخة احتياطية من التسلسل المفقود بحيث يمكن أن تستند إليه عملية الإصلاح، وهو ما يمكن أن يوجد في الغالب في كروموسوم آخر. تتعرَّف الآلة الخلوية على المناطق المتماثلة، ثم تضاعف أي أجزاء مفقودة بناءً على الكروموسوم السليم، قبل وضعها في القطع.

وهذا يعني أنه إذا أردنا إدخالَ جين في جينوم، فإننا ببساطة نكيِّف نظام كريسبر لقطع جزء من الدي إن إيه، ثم نغمر الخلية بنسخٍ من الجين الذي نريد إدخاله، ونحصرها بين المناطق المتماثلة مع التسلسلات على جانبيِ القطع. ومن المرجَّح أن يستخدم بعد ذلك نظام الإصلاح الموجَّه بالتماثل الدي إن إيه المحقون اصطناعيًّا لإصلاح القطع المحفز بنظام كريسبر.

أطفال معدَّلون جينيًّا

رغم كل التطبيقات الواعدة التي يوفِّرها علم الأحياء التخليقي، بدايةً من الكائنات التخليقية التي يمكن أن تُوجد مصادر مستدامة من الوقود وحتى تعديل الجينات

المعطوبة، فإنه توجد مشكلاتٌ أخلاقية خطِرة نحتاج إلى التعامل معها، وتطبيقاتٌ سيئة لهذه التقنيات.

في نوفمبر ٢٠١٨، صَدم هه جيان كوي — من الجامعة الجنوبية للعلوم والتكنولوجيا بمدينة شنجن بالصين — العالَم عندما أعلن عن ميلاد فتاتين توأمين ذواتي جينات معدَّلة. كان هدفه تحصين الفتاتين من الإصابة بفيروس نقص المناعة البشرية. وتحقيقًا لهذا الهدف، فقد خصَّب بويضتين من متبرِّعة أبدت موافقتها باستخدام السائل المنوي لشريكها.

حينها، استخدم هه تقنية كريسبر لتعطيل جين يسمَّى CCR5 لدى الجنينين. عادةً ما يعبِّر هذا الجين عن بروتين مستقبِل يستخدمه فيروس نقص المناعة البشرية للالتصاق بالخلايا وإصابتها. وافق الشريكان المتبرعان على زرع الجنينين، وقد نما الجنينان نموًّا طبيعيًّا، ومن ثَم وُلدا أحياءً.

أثارت تجارب هه — وكانت تجاربَ إلى حدٍّ كبير — جدلًا واسعًا، لا سيما أنه لم تكن توجد ضرورة طبية لهذا الإجراء. كان الأب مصابًا بفيروس نقص المناعة البشرية، ولكن تتوافر بالفعل تقنيات مجرَّبة ومختبَرة لإزالة فيروس نقص المناعة البشرية من عينات السائل المنوي قبل إجراء عملية الحقن المجهري، ومن ثَم يُزال خطر إصابة الأمهات والأطفال بهذا الفيروس. إضافة إلى ذلك، الجين CCR5 له دورٌ إيجابي في الجهاز المناعي، وبإزالته فقد تؤثِّر إجراءات هه تأثيرًا خطِرًا على صحة الفتاتين. بل الأسوأ من ذلك، بالتلاعب في الجنينين، فقد غيَّر هه في الخط الجرثومي، ولو كوَّنت الفتاتان أسرةً في المستقبل، فسيحمل أطفالهما الجينات المعدَّلة وتبِعاتها غير المعروفة. وعلى إثر ذلك، اتُّهم هه بارتكاب «ممارسات طبية غير قانونية» وحُكم عليه بالسَّجن لمدة ثلاث سنوات.

فيروسات معدَّلة جينيًّا

في عام ٢٠٠٢، عندما كان العمل على الجينوم JCVI−syn1.0 ما زال في بدايته، نشر الدكتور إيكارد فيمر ورقةً بحثية رائدة ذكر فيها كيف أنشأ فريقه نسخةً مطابِقة وعاملة من فيروس مُمرض. بدأ فيمر بتنزيل تسلسل جينوم فيروس شلل الأطفال المتاح للجميع. ولما اشترى فيمر امتداداتٍ قصيرة للدي إن إيه من إحدى الشركات المتعدِّدة التي توفِّر التسلسلات حسب الطلب، جمَّع مع فريقه التسلسلات القصيرة بعضها مع بعض حتى أعادوا تكوين جينوم كامل مكوَّن من ٧٧٤١ قاعدة. إن فيروس شلل الأطفال له جينوم

قائم على الآر إن إيه، ومن ثَم كان يجب نسخ الدي إن إيه إلى الآر إن إيه. وعندما أُدخل الجينوم التخليقي في خط خلوي، أنتجت الخلايا جسيماتٍ فيروسية أدَّت إلى إصابة الفئران بشلل الأطفال.

وبحسب قول فيمر نفسه، «لم تَعُد هناك حاجة إلى الفيروس الحقيقي حتى تجعله يعمل وينتشر». فكل ما تحتاج إليه هو تسلسل الجينوم وتسلسلات الدي إن إيه التي يمكنك طلبُها عبر الإنترنت وتسلُّمها من البريد، وعدد من الفنيين المهرة.

ضع في اعتبارك بعد ذلك التطورَ الهائل الذي حدث في القدرات التكنولوجية الحيوية منذ عام ٢٠٠٢. ففي عام ٢٠٠٥، أعاد العلماء من مركز مكافحة الأمراض بالولايات المتحدة تخليقَ فيروس الإنفلونزا الإسبانية الذي تسبَّب في جائحة عالمية في عام ١٩١٨، وفي عام ٢٠١٨ أنشأ فريق كندي فيروس جدري الخيول — وهو مشابه لفيروس الجدري — من دي إن إيه طُلب عبر البريد. لا يشكِّل جدري الخيول خطرًا على صحة الإنسان، ولكن بمعرفة طريقة تخليقه، وهو فيروس معقَّد (حيث إن جينومه أكبر بنحو عشرين ضِعفًا من جينوم فيروس شلل الأطفال)، فإن هذا يقرِّبنا أكثرَ من إنشاء جدري تخليقي.

هناك تطوُّر آخر مثير للقلق وهو البحث المعني بإضافة الوظائف، الذي تُعطى الكائنات الحية بموجبه «قدرات» إضافية. أُبرز هذا القلق بعمل رون فوشير الذي أدخل خمس طفرات على فيروس إنفلونزا الطيور H_5N_1 ما جعله فيروسًا منقولًا عبر الهواء وقادرًا على إصابة الثدييات.

هذه التطورات تجعل الإطلاق العرَضي أو المتعمَّد لمسبِّبات الأمراض الخطِرة احتمالًا حقيقيًّا. ومن ثَم، هناك حاجة ملحَّة لفرض أطرٍ تنظيمية للسيطرة على هذه التكنولوجيات الناشئة. يوجد بالفعل قدْر من التنظيم الذاتي. فشركات التكنولوجيا الحيوية تفرز طلبات الدي إن إيه بحيث لا ترسل تسلسلات معينة خطِرة. أتى هذا الإجراء عقِب واقعةٍ حدثت في عام ٢٠٠٦ حين حصل صحفيون من صحيفة «ذا جارديان» على تسلسل الجدري، وطلبوا جزءًا من الدي إن إيه الخاص به. لكن هل هذا التنظيم الذاتي كافٍ؟ تُحفظ مسبِّبات الأمراض الخطِرة في منشآت شديدة الانضباط وعالية التأمين. لكن الأمر استغرق مني نحو خمس دقائق حتى أعثر على التسلسل الكامل لجينوم فيروس الجدري على قاعدة بيانات متاحة للجميع. واجهت العصورُ السابقة المخاطرَ الناجمة عن التكنولوجيا التي ابتُكرت فيها، وكان علينا التعامل مع العواقب. وبما أننا نعيش في عصر علم الأحياء، فإننا بحاجة إلى دراسة الآثار المترتبة على ما لدينا من معارفَ، ومعرفة كيف يمكننا التحكُّم

في الوصول إلى المعلومات الحيوية. هل ربما ينبغي علينا فرض قيود على المخطَّطات التي يمكن استخدامها لبناء كائنات خطِرة مثل القيود المفروضة على تلك الكائنات نفسها؟

في عام ٢٠١٢، ألقت البروفسير آن جلوفر، كبيرةُ المستشارين العلميين لرئيس الاتحاد الأوروبي، كلمةً في المنتدى العالمي للتكنولوجيا الحيوية التابع لمنظمة التعاون والتنمية في الميدان الاقتصادي. ذكرت فيها كيف أن القرون تكتسب أسماءها من التطورات العلمية الحادثة فيها؛ لقد كان القرن التاسع عشر هو عصر الهندسة؛ حيث إنه شهِد تطوير تكنولوجيات غيَّرت المجتمع، مثل قطار ستيفنسون البخاري، وسيارة بنز، وراديو ماركوني. وفي القرن العشرين، كان هابر وبوش السببَ وراء حدوث انفجار سكاني عبر تطوير وسيلة للإنتاج الواسع النطاق للنشادر، ومن ثَم المخصِّبات الزراعية؛ وأنشأ فلوري وتشاين وفليمنج دواءً غيَّر الطريقةَ التي نتعامل بها مع أنواع العدوى؛ ووضعت ماري كوري نظريةَ النشاط الإشعاعي؛ وقدَّم تيم بيرنرز-لي لنا شبكةَ الويب العالمية، وبذلك أصبح القرن العشرون هو عصر الكيمياء والفيزياء. ولما بزغ فجر القرن الحادي والعشرين، حُدد تسلسل الجينوم البشري ما يبشر بأنه «عصر علم الأحياء»، في ظل حدوث توسُّع كبير ومستمر في التكنولوجيات القائمة على الكيمياء الحيوية التي تهدف إلى إعادة تشكيل المجتمع (سواء للأفضل أو للأسوأ)، تمامًا كما فعلت السيارات والمضادات الحيوية وشبكة الإنترنت في القرنين الماضيين.

قراءات إضافية

For a broader history of protein science, see Tanford, C. and Reynolds, J., 2004. *Nature's Robots*. Oxford: Oxford University Press.

Watson, J., 1981. *The Double Helix*. London: Weidenfeld. James Watson's personal account of the discovery of the structure of DNA gives some fascinating insights into the science of the time and his appalling attitude to Rosalind Franklin.

There have been Nobel prizes aplenty for work described in this book, and many have excellent summaries on the Nobel prize website:

NobelPrize.org. 2020. *The Nobel Prize in Chemistry 1978*. Available at: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1978/summary/ (accessed 10 March 2020).

NobelPrize.org. 2020. *The Nobel Prize in Chemistry 1989*. Available at: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1989/cech/article/ (accessed 10 March 2020).

NobelPrize.org. 2020. *The Nobel Prize in Chemistry 1993*. Available at: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1993/pressrelease/ (accessed 10 March 2020).

NobelPrize.org. 2020. *The Nobel Prize in Chemistry 2008*. Available at: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2008/advancedinformation/ (accessed 10 March 2020).

NobelPrize.org. 2020. *The Nobel Prize in Chemistry 2014*. Available at: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2014/popularinformation/ (accessed 10 March 2020).

NobelPrize.org 2020. *The Nobel Prize in Chemistry 2020*. Available at: https://www.nobelprize.org/uploads/2020/10/advancedchemistryprize2020.pdf (accessed 7 October 2020).

NobelPrize.org. 2020. *The Nobel Prize in Physics 2018*. Available at: https://www.nobelprize.org/prizes/physics/2018/popularinformation/ (accessed 10 March 2020).

NobelPrize.org. 2020. *The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1991*. Available at: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1991/ (accessed 10 March 2020).

The Biochemist ran an excellent special edition on 'Synthetic Biology', 2019, 41(3), pp.3–48.

Very Short Introductions are available on several topics mentioned in this book including proteins, enzymes, synthetic biology, molecular biology, and genes.

المراجع

المقدمة

Schrödinger, E., 1967. *What Is Life?* Cambridge: Cambridge University Press.

الفصل الأول: جذور الكيمياء الحيوية

Hein, G., 1961. The Liebig-Pasteur controversy: Vitality without vitalism. *Journal of Chemical Education*, 38(12), p.614.

Kohler, R., 1971. The background to Eduard Buchner's discovery of cell-free fermentation. *Journal of the History of Biology*, 4(1), pp.35–61.

Hofmeister, F., 1902. Über Bau und Gruppierung der Eiweisskörper. *Ergebnisse der Physiologie*, 1(1), pp.759–802.

Fischer, E., 1906. Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteïne. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 9(1), pp.530–610.

Sanger, F. and Tuppy, H., 1951. The amino-acid sequence in the phenylalanyl chain of insulin. 1: The identification of lower peptides from partial hydrolysates. *Biochemical Journal*, 49(4), pp.463–81.

Sanger, F. and Thompson, E., 1953. The amino-acid sequence in the glycyl chain of insulin. 1: The identification of lower peptides from partial hydrolysates. *Biochemical Journal*, 53(3), pp.353–66.

Pauling, L., 1951. *The Nature of the Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals*. Ithaca, NY: Cornell University Press.

Pauling, L., Corey, R., and Branson, H., 1951. The structure of proteins: Two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 37(4), pp.205–11.

Pauling, L. and Corey, R., 1951. Configurations of polypeptide chains with favored orientations around single bonds: Two new pleated sheets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 37(11), pp.729–40.

Soyfer, V., 2001. The consequences of political dictatorship for Russian science. *Nature Reviews Genetics*, 2(9), pp.723–9.

Avery, O., MacLeod, C., and McCarty, M., 1944. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. *The Journal of Experimental Medicine*, 79(2), pp.137–58.

Hershey, A. and Chase, M., 1952. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *The Journal of General Physiology*, 36(1), pp.39–56.

Pauling, L. and Corey, R., 1953. A proposed structure for the nucleic acids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 39(2), pp.84–97.

Watson, J. and Crick, F., 1953. Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356), pp.737–8.

Wilkins, M., Stokes, A., and Wilson, H., 1953. Molecular structure of nucleic acids: Molecular structure of deoxypentose nucleic acids. *Nature*, 171(4356), pp.738–40.

Franklin, R. and Gosling, R., 1953. Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature*, 171(4356), pp.740–1.

الفصل الثالث: البروتينات: آلات الطبيعة النانوية

Berman, H., Battistuz, T., Bhat, T., Bluhm, W., Bourne, P., Burkhardt, K., Feng, Z., Gilliland, G., Iype, L., Jain, S., Fagan, P., Marvin, J., Padilla, D.,

Ravichandran, V., Schneider, B., Thanki, N., Weissig, H., Westbrook, J., and Zardecki, C., 2002. The Protein Data Bank. *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography*, 58(6), pp.899–907.

Koshland, D., 1995. The key–lock theory and the induced fit theory. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 33(2324), pp.2375–8.

Michaelis, L. and Menten, M.L. 1913. Kinetik der Invertinwirkung. *Biochem. Z.* 49, pp.333–69.

Kendrew, J., Bodo, G., Dintzis, H., Parrish, R., Wyckoff, H., and Phillips, D., 1958. A three-dimensional model of the myoglobin molecule obtained by X-ray analysis. *Nature*, 181(4610), pp.662–6.

Anfinsen, C., Haber, E., Sela, M., and White, F., 1961. The kinetics of formation of native ribonuclease during oxidation of the reduced polypeptide chain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 47(9), pp.1309–14.

Levinthal, C., 1969. How to fold graciously. *Mossbauer Spectroscopy in Biological Systems: Proceedings of a Meeting held at Allerton House, Monticello, Illinois*, 67(41), pp.22–4.

Foldingathome.org. 2020. *Folding@Home—Fighting Disease with a World Wide Distributed Super Computer.* Available at: https://foldingathome.org/ (accessed 10 March 2020).

Cameo3d.org. 2020. *CAMEO—Continuous Automated Model Evaluation—Welcome*. Available at: http://cameo3d.org/ (accessed 10 March 2020).

Bragg, W., 1913. The diffraction of short electromagnetic waves by a crystal. *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 17, pp.43–57.

الفصل الرابع: الأحماض النووية: المخطَّطات الأولية للحياة

Crick, F.H., 1958. On protein synthesis. In: F.K. Sanders, ed., *Symposia of the Society for Experimental Biology, Number XII: The Biological Replication*

of Macromolecules. Cambridge: Cambridge University Press, pp.138–63.

Zaug, A., Been, M., and Cech, T., 1986. The Tetrahymena ribozyme acts like an RNA restriction endonuclease. *Nature*, 324(6096), pp.429–33.

Crick, F.H.C., Griffith, J.S., and Orgel, L.E., 1957. Code without commas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 43(5), pp.416–21.

Nirenberg, M. and Matthaei, J., 1961. The dependence of cell-free protein synthesis in *E. coli* upon naturally occurring or synthetic polyribonucleotides. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 47(10), pp.1588–602.

الفصل الخامس: إمداد الخلايا بالطاقة: عِلم الطاقة الحيوية

Krebs, H. and Johnson, W., 1937. Metabolism of ketonic acids in animal tissues. *Biochemical Journal*, 31(4), pp.645–60.

Mitchell, P., 1961. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature*, 191(4784), pp.144–8.

الفصل السادس: تصنيع الدي إن إيه وصيانته

Meselson, M. and Stahl, F., 1958. The replication of DNA in Escherichia coli. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 44(7), pp.671–82.

Sanger, F., Nicklen, S., and Coulson, A., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), pp.5463–7.

Wade, N., 1998. *Scientist at Work: Kary Mullis; after the 'Eureka,' a Nobelist Drops Out*. Nytimes.com. Available at: https://www.nytimes.com/1998/09/15/science/scientist-at-work-kary-mullisafter-the-eureka-a-nobelist-drops-out.html (accessed 10 March 2020).

NobelPrize.org. 2020. *The Nobel Prize in Chemistry 1993*. Available at: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1993/mullis/lecture (accessed 10 March 2020).

Kleppe, K., Ohtsuka, E., Kleppe, R., Molineux, I., and Khorana, H., 1971. Studies on polynucleotides. *Journal of Molecular Biology*, 56(2), pp.341–61.

Barinaga, M., 1991. Biotech nightmare: Does Cetus own PCR? *Science*, 251(4995), pp.739–40.

الفصل السابع: تتبُّع الكيمياء الحيوية داخل الخلية

Neher, E. and Sakmann, B., 1976. Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature*, 260(5554), pp.799–802.

Chalfie, M., Tu, Y., Euskirchen, G., Ward, W.W., and Prasher, D.C., 1994. Green fluorescent protein as a marker for gene expression. *Science*, 263(5148), pp.802–5.

Abbe, E., 1873. Beiträge zur Theorie des Mikroskops und der mikroskopischen Wahrnehmung. *Archiv für Mikroskopische Anatomie*, 9(1), pp.413–68.

Hall, C., 1956. Method for the observation of macromolecules with the electron microscope illustrated with micrographs of DNA. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 2(5), pp.625–8.

Betzig, E., Patterson, G., Sougrat, R., Lindwasser, O., Olenych, S., Bonifacino, J., Davidson, M., Lippincott-Schwartz, J., and Hess, H., 2006. Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution. *Science*, 313(5793), pp.1642–5.

Loose, M. and Mitchison, T., 2013. The bacterial cell division proteins FtsA and FtsZ self-organize into dynamic cytoskeletal patterns. *Nature Cell Biology*, 16(1), pp.38–46.

Belyy, V., Schlager, M., Foster, H., Reimer, A., Carter, A., and Yildiz, A., 2016. The mammalian dynein–dynactin complex is a strong opponent to kinesin in a tug-of-war competition. *Nature Cell Biology*, 18(9), pp.1018–24.

Roberts, A., Goodman, B., and Reck-Peterson, S., 2014. Reconstitution of dynein transport to the microtubule plus end by kinesin. *eLife*, 3.

Svoboda, K., Schmidt, C., Schnapp, B., and Block, S., 1993. Direct observation of kinesin stepping by optical trapping interferometry. *Nature*, 365(6448), pp.721–7.

Blehm, B., Schroer, T., Trybus, K., Chemla, Y. and Selvin, P., 2013. *In Vivo Optical Trapping Indicates Kinesin's Stall Force Is Reduced by Dynein during Intracellular Transport. Proceedings of the National Academy of Science*, 110(9), pp.3381–6.

الفصل الثامن: التكنولوجيا الحيوية وعلم الأحياء التخليقي

Royalsociety.org. n.d. *Synthetic Biology/Royal Society*. Available at: https://royalsociety.org/topics-policy/projects/synthetic-biology/ (accessed 10 March 2020).

Gibson, D., Glass, J., Lartigue, C., Noskov, V., Chuang, R., Algire, M., Benders, G., Montague, M., Ma, L., Moodie, M., Merryman, C., Vashee, S., Krishnakumar, R., Assad-Garcia, N., Andrews-Pfannkoch, C., Denisova, E., Young, L., Qi, Z., Segall-Shapiro, T., Calvey, C., Parmar, P., Hutchison, C., Smith, H., and Venter, J., 2010. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science*, 329(5987), pp.52–6.

Hutchison, C., Chuang, R., Noskov, V., Assad-Garcia, N., Deerinck, T., Ellisman, M., Gill, J., Kannan, K., Karas, B., Ma, L., Pelletier, J., Qi, Z., Richter, R., Strychalski, E., Sun, L., Suzuki, Y., Tsvetanova, B., Wise, K.,

Smith, H., Glass, J., Merryman, C., Gibson, D., and Venter, J., 2016. Design and synthesis of a minimal bacterial genome. *Science*, 351(6280), pp.aad6253.

Gleizer, S., Ben-Nissan, R., Bar-On, Y., Antonovsky, N., Noor, E., Zohar, Y., Jona, G., Krieger, E., Shamshoum, M., Bar-Even, A., and Milo, R., 2019. Conversion of *Escherichia coli* to generate all biomass carbon from CO_2. *Cell*, 179(6), pp.1255–63.e12.

Ishino, Y., Shinagawa, H., Makino, K., Amemura, M., and Nakata, A., 1987. Nucleotide sequence of the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *Journal of Bacteriology*, 169(12), pp.5429–33.

Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J.A., and Charpentier, E. 2012. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337(6096), pp.816–21.

Cyranoski, D., 2019. The CRISPR-baby scandal: What's next for human gene-editing. *Nature*, 566(7745), pp.440–2.

Cyranoski, D., 2020. What CRISPR-baby prison sentences mean for research. *Nature*, 577(7789), pp.154–5.

Cello, J., 2002. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: Generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science*, 297(5583), pp.1016–18.

Pollack, A., 2002. *Traces of Terror: The Science. Scientists Create a Live Polio Virus*. Nytimes.com. Available at: https://www.nytimes.com/2002/07/12/us/traces-of-terror-the-science-scientists-createa-live-polio-virus.html (accessed 10 March 2020).

Herfst, S., Schrauwen, E., Linster, M., Chutinimitkul, S., de Wit, E., Munster, V., Sorrell, E., Bestebroer, T., Burke, D., Smith, D., Rimmelzwaan, G., Osterhaus, A., and Fouchier, R., 2012. Airborne transmission of influenza A/H_5N_1 virus between ferrets. *Science*, 336(6088), pp.1534–41.

Randerson, J., 2006. Did anyone order smallpox? *The Guardian*. Available at: https://www.theguardian.com/science/2006/jun/23/weaponstechnology.guardianweekly (accessed 10 March 2020).

قائمة الصور


هنـــداوي